

Experimentelle Untersuchungen
zur Nierenverträglichkeit
von Imipenem/Cilastatin an Ratten
und an autologen Nierentransplantaten
an Hunden

Bernard Grevemeyer

Aus dem Institut für
Chirurgische Forschung
Universität München, Klinikum Großhadern
Direktor: Prof. Dr. Dr. h.c. W. Brendel

Vorgelegt über das

Institut für Physiologie, Physiologische Chemie und
Ernährungsphysiologie der Tierärztlichen Fakultät
der Universität München

Angefertigt unter Leitung von
Prof. Dr.med.vet. M. Merkschlager
und
Prof. Dr.med.vet. Dr.med. C. Hammer

**Experimentelle Untersuchungen zur
Nierenverträglichkeit von Imipenem/Cilastatin
an Ratten und an autologen Nierentransplantaten
an Hunden**

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians Universität München

Von
Bernard Grevemeyer
aus
Sudbury, Kanada

München 1986

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät
der Universität München

Dekan: Prof. Dr. H. Zucker

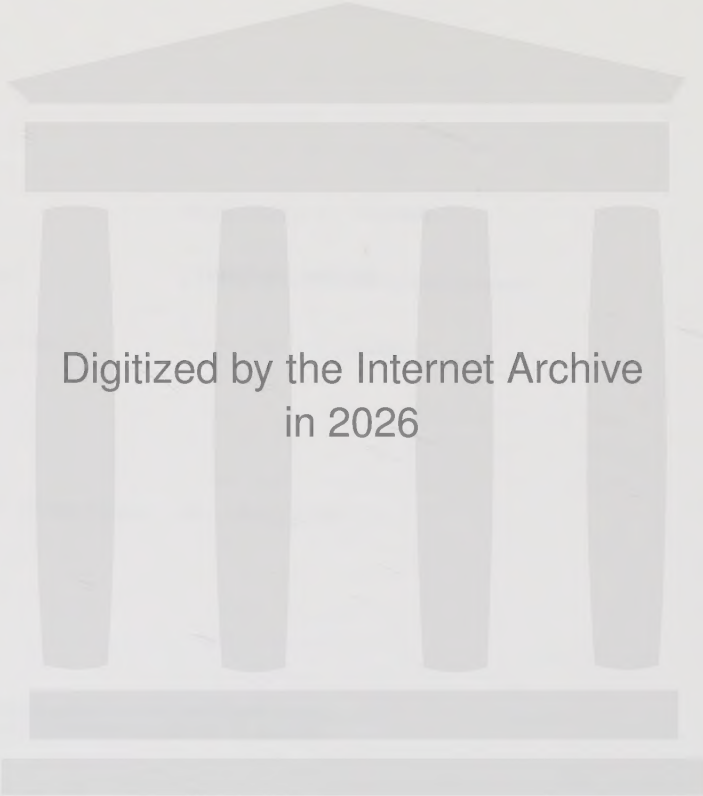
Referent: Prof. Dr. M. Merckenschlager

Korreferent: Prof. Dr. E. Dahme

Tag der Promotion: 25. Juli 1986

DISSERTATIONS- UND FOTODRUCK FRANK GmbH
8000 München 2, Gabelsbergerstraße 15, Tel. 2809090

Meiner Mutter



Digitized by the Internet Archive
in 2026

I N H A L T S V E R Z E I C H N I S

	Seite
A. Einleitung	1
B. Literaturübersicht	4
C. Eigene Untersuchungen	8
1. Problemstellung	8
2. Material und Methoden	10
3. Verwendete Tiere	10
4.1. Hunde	10
4.1.1. Versuchsgruppen und Beobachtungszeiten	10
4.1.2. Vorbereitung zur Nierentransplantation	11
4.1.3. Anästhesie	11
4.1.4. Autologe Nierentransplantationstechnik	12
4.1.5. Postoperative Untersuchungen	15
a.) Bestimmungen im Vollblut	15
b.) Bestimmungen im Serum	17
c.) Clearance Untersuchung	19
d.) Histologie (Stanzbiopsie)	20
e.) Pathologie (Cytologie)	21
4.2. Ratten	22
4.2.1. Versuchsgruppen und Beobachtungszeiten	22
4.2.2. Probengewinnung	22

4.2.3.	Probenuntersuchung	22
	a.) Bestimmungen im Vollblut	22
	b.) Bestimmungen im Serum	22
	c.) Bestimmungen im Urin	24
	d.) Endogene Kreatinin Clearance	27
	e.) Pathologie (Cytologie)	27
5.	Statistik	28
D.	Ergebnisse	29
6.1.	Hunde	29
6.2.	Ratten	41
E.	Diskussion	51
7.1.	Therapieversuche mit Hunden	51
7.2.	Therapieversuche an Ratten	60
F.	Zusammenfassung	66
	Summary	67
G.	Literaturnachweis	68

Verwendete Abkürzungen:

ADA	Adenosindesaminase
ALP	Alkalische Phosphatase
AMP	Adenosinmonophosphatase
CHE	Cholinesterase
CL	Gesamtclearence
Cp	Plasmakonzentration der Substanz m
Cts/ml	Counts pro Milliliter
Cu	Milligramm Kreatinin pro Milliliter Urin
dm/dt	Pro Zeiteinheit durch die Nieren ausgeschiedener Anteil der Substanz m
EDTA	Ethylene Diamine Tetraacetate
g ²	Körpergewicht in Gramm zum Quadrat
γ-GT	Gamma-Glutamyl-Transferase
GLDH	Glutamat-Dehydrogenase
GOT	Glutamat-Oxalacetat-Transaminase (neue Bezeichnung: Aspartat-Aminotransferase; AST)
GPT	Glutamat-Pyruvat-Transaminase (neue Bezeichnung: Alanin-Aminotransfersae; ALT)
IU/l	International Units pro Liter
LDH	Lactat-Dehydrogenase
MDH	Malat-Dehydrogenase
mg/dl	Milligramm pro Deziliter
ml/dl	Milliliter pro Deziliter
mU/mg	Milliunits pro Milligramm
NAD	Nicotinsäureamid-Adenin-Dinucleotid
NADH	Reduziertes Nicotinsäureamid-Adenin-Dinucleotid
NAG	N-acetyl-β-D-glucosaminidase
5'-ND	5'-Nucleotidase
O	Körperoberfläche
Vu	Urinvolumen in ml/12 h
Zmin	Urinsammelzeit in Minuten

A. EINLEITUNG

Mitte der dreißiger Jahre stand zum ersten Mal eine Gruppe von Arzneimitteln mit einer relativ breiten und spezifischen Wirkung gegen bakterielle Krankheits- und Infektionserreger zur Verfügung: die Sulfonamide. Mit der Entdeckung der antibakteriellen Wirkung von Sulfonamiden im Jahre 1932 durch G. D O M A G K (1895 - 1964) und ihrer Einführung in die Therapie im Jahre 1935 gelang dann bei der Bekämpfung bakterieller Infektionen ein Durchbruch.

Die Isolierung von Penicillin aus Kulturfiltraten von *Penicillium notatum* gelang im Jahr 1940 der Oxford-Gruppe Florey, Chain und Abraham. Die Entdeckung der antibakteriellen Wirksamkeit von Penicillin geht bereits auf das Jahr 1928 zurück, als F. L E M I N G im St. Mary's Hospital in London die Zufallsbeobachtung machte, daß es auf mit *Penicillium*-Arten verunreinigten Kulturplatten zu einer Bakteriolysen in der Umgebung der Pilzkulturen kam. Er nahm erste Untersuchungen über die antibakterielle Wirkung und Toxizität dieser Kulturfiltrate vor.

Das Problem der Antibiotika-Therapie ist, daß hochwirksame Substanzen häufig auch besonders toxisch sind. Zusätzlich sollte ein Antibiotikum ein breites Wirkungsspektrum besitzen und nicht zur Resistenz der Keime führen.

Bei Infektionen mit verschiedenen Erregern handelt es sich häufig um Mischungen aus aeroben und anaeroben Bakterien. Zu den häufigsten resistenten Erregern gehören *Pseudomonas*, *Serratia* und *Enterobakter*.

Für derartige resistente Mischinfekte sind immer neuere Antibiotikaarten und deren Kombinationen vonnöten. Charakteristische klinische Fälle für solche Breitband-Antibiotika sind:

1. Nosokomiale Bakteriämien bei denen vor allem die gram-negativen Erreger *Pseudomonas*, *Klebsiella*, *Proteus* und *Escherichia coli* eine große Rolle spielen. Auch Infektionen mit grampositiven Staphylokokken gewinnen gerade in der letzten Zeit wieder zunehmend an Bedeutung. Da es sich häufig um Mischinfektionen handelt und die Erreger oft gegen viele Antibiotika bereits resistent sind, stellen die Hospitalinfektionen damit ein therapeutisches Problem ersten Ranges dar (DASCHNER, 1980).

2. Kontaminierte Verletzungen mit Erregern, die von der Haut und aus der Umwelt stammen, einschließlich aerober grampositiver Kokken und gramnegativer Bazillen.

Um gegen diese Infektionen das erforderliche breite antimikrobielle Spektrum zu erreichen, wurden in der Klinik Antibiotika-Kombinationen angewandt. Dabei war jedes Antibiotikum so ausgesucht, daß es gegen eine unterschiedliche Gruppe der in Frage kommenden Bakterien wirksam war. Wenn auch diese Kombinationen generell wirksam waren, so setzten sie doch den Patienten der Gefahr einer additiven, toxischen Belastung aus.

Toxische Nebenwirkungen von Antibiotika sind wirkstoff-spezifisch. Sie beziehen sich auf die Wirksubstanz sowie auf deren Um- und Abbauprodukte. Die meisten toxischen Nebenwirkungen entstehen durch Überdosierung und Akkumulation bei Ausscheidungsstörungen. Als Zielorgane betroffen sind besonders die Leber und die Niere. Die Leber hat in funktioneller Hinsicht eine zentrale Stellung im Gesamtstoffwechsel inne. Sie nimmt nicht nur die vom Darm resorbierten Stoffe auf, sondern entgiftet und resorbiert auch abbaubedürftige Arzneimittel. Die Nieren erhalten rund 25 % des Herz-Zeit-Volumens. Das heißt sie gehören, im Verhältnis zu ihrem Gewicht (nur 0.5 % des Körpergewichts !) zu den am besten durchbluteten Organen des Körpers. Dieses Ausscheidungsorgan ist somit besonders empfänglich für parenterale Antibiotika.

Ein Beispiel für die übliche Kombination von Antibiotika bei Infektionen durch Bakterien der Darmflora ist Clindamycin, Ampicillin und Gentamicin. Man nimmt dabei das Risiko einer pseudomembranösen Colitis durch Clindamycin, eines Ampicillin-induzierten Hautausschlages oder die nephrotoxische Wirkung der Aminoglykoside in Kauf (MAC GREGOR, 1985). Schwere Tubulonephrosen können bei hohen Gaben von Oxytetracyklinen und Sulfonamiden entstehen. Renale Ausscheidungsstörungen wiederum begünstigen die Entwicklung von Infektionen der ableitenden Harnwege.

Mit dem Ziel, die Gefahren der Aminoglykoside zu vermeiden und trotzdem eine gute Wirkung gegen gramnegative Aerobier zu erhalten, wurde eine Anzahl neuer antibakterieller Substanzen entwickelt. Jedes dieser Präparate bedeutet einen Fortschritt im Spektrum oder in den Dosierungsintervallen. Aber auch sie wiesen immernoch eine geringe Wirkung gegen einen oder mehrere wichtige Erreger auf. Es wurde daher nach einer Monosubstanz gesucht, die gegen alle wichtigen pathogenen Keime wirksam ist, ohne von gravierenden Nebenwirkungen begleitet zu sein.

Ein solches Antibiotikum schien in Imipenem/Cilastatin gefunden worden zu sein.

B. LITERATURÜBERSICHT

Imipenem ist ein neues Breitband - β - Lactamantibiotikum. Diese Thienamycine, zu denen Imipenem gehört, sind natürliche Produkte von *Streptomyces catteya* (KAHAN et al., 1976). 1978 konnte die Strukturformel und die Stereochemie von Thienamycin beschrieben werden (ALBERS-SCHÖNBERG et al., 1978). Thienamycin besitzt eine bicyclische Grundstruktur, unterscheidet sich aber von den Penicillinen durch die Ringsubstitution und die Beschaffenheit des Fünfringes (Pyrolinstruktur: kein Schwefel, eine Doppelbindung). Diesen Verbindungstyp bezeichnet man als Carbapenem, wobei man ausgehend von der klassischen Penicillinstruktur (Thiazolidinring) diese mit der Bezeichnung Penam belegt hat. Die eigentlichen Penam-Verbindungen sind dann solche mit einem Thiazolinring. Wird dessen Schwefelatom durch Kohlenstoff ersetzt, gelangt man zu den Carbapenen (BRUNS 1983). Aktivitätsstudien haben gezeigt, daß diese Substitution entscheidend für das breite Spektrum und die hohe Wirksamkeit ist (KAHAN et al., 1979).

Thienamycin hat ein sehr breites antimikrobielles Spektrum. In hohen Konzentrationen allerdings kommt es zu einer Selbst-Inaktivierung durch Aminolyse des β -Lactam-Ringes (KAHAN et al., 1979). Dieses Problem wurde durch die Synthese des N-Formimidoyl-Derivats MK 0787, bekannt als Imipenem (Abb. 1), gelöst (LEANZA et al., 1979). Imipenem besitzt sowohl in festem Zustand, als auch in Lösung, die zur Herstellung eines Arzneimittels in pharmazeutischer Dosierung erforderliche Stabilität. Dabei war ein wichtiger Gesichtspunkt, daß das breite Wirkungsspektrum der Ursubstanz unverändert erhalten blieb; darüber hinaus ergab sich, daß das Derivat gegen verschiedene klinisch wichtige Erreger, insbesondere *Pseudomonas aeruginosa*, noch stärker wirksam war. Wie andere β -Lactamantibiotika wirkt es

bakterizid. Desweiteren besitzt es einen hohen Grad an Aktivität gegen Enterobacteriaceae und die meisten Anaerobier, einschließlich *Bacteroides fragilis* (KROPP et al., 1980; KESADO et al., 1980). Imipenem verdankt seine β -Lactamase-Stabilität der ungewöhnlichen Trans-Konfiguration seiner Hydroxyethyl-Seitenkette (ALBERS-SCHÖNBERG et al., 1978; RICHMOND, 1980). Die Substanz penetriert gut die äußere Bakterien-Hülle (VUYE, 1982). Über die Teratogenität dieser Substanz läßt sich bisher keine Aussage machen (JAFFE und STILLE, 1985).

Eine verstärkte Metabolisierung von Imipenem wird durch die niedrige Ausscheidung im Urin manifest. Im Urin des Hundes betrug die Menge der aktiven Substanz weniger als 8 % (KROPP et al., 1982) und beim Schimpansen nur etwa 14 % ; somit waren beim Schimpansen 86 % des intravenös verabreichten Antibiotikums metabolisiert worden (KAHAN et al., 1983). In einem Versuch wurde verhindert, daß das im großen Kreislauf zirkulierende Antibiotikum in die Niere gelangte. Die Nierenarterien einer Ratte und eines Kaninchens wurden unterbunden. Es zeigte sich, daß die Metabolisierung des Antibiotikums reduziert war. So wurde für das Kaninchen berechnet, daß in der Niere 92 % des Antibiotikums metabolisiert werden (KROPP et al., 1982; BIRNBAUM 1985). Bei Personen mit normaler Nierenfunktion werden etwa 75 % der Substanz in den Nieren inaktiviert. Imipenem wird zu einem geringen Anteil an Eiweiß gebunden (ca. 20 %)(REEVES et al., 1983). Etwa 20 % der mit dem Plasma in die Niere einströmenden Imipenem-Menge wird in die Tubuli glomerulär abfiltriert. Nahezu 80 % erreichen die basolateralen Membranen der proximalen Tubuluszellen (BARZA, 1984; THURAU, 1985). Etwa ein Viertel der Dosis wird auf nicht renalem Weg ausgeschieden, vermutlich über eine Metabolisierung (KAHAN et al., 1983; NORRBY et al., 1983), wobei sehr wenig aktiver Wirkstoff im Stuhl gefunden wird (NORD et al., 1984).

Bei der Untersuchung des Abbaus von Imipenem in Leber- und Nierenhomogenaten, wurden Metabolite nur im Nierenpräparat

gefunden (KROPP et al., 1982). Diese Metabolisierung kam unter Gabe von EDTA zum Stillstand und konnte durch Zinkionen wiederhergestellt werden. Die Vermutung lag nahe, daß eine Metallopeptidase beteiligt ist. Eine strukturelle Ähnlichkeit wies darauf hin, daß eine renale Dipeptidase, die Dehydropeptidase I, für die Inaktivierung von Imipenem verantwortlich sein könnte (KROPP et al., 1982; GREENSTEIN et al., 1948; WELCH et al., 1978). Diese Dehydropeptidase I führt zu einer Hydrolyse des β -Lactam-Rings. Das Enzym wurde aus menschlichen Nieren und aus Schweinenieren in gereinigter Form isoliert. Es zeigte sich, daß das Reaktionsprodukt von Imipenem und der renalen Dehydropeptidase das gleiche Produkt ist, das aus dem Urin von Säugern nach Gabe des Antibiotikums wiedergewonnen wurde. Das Enzym ist gegenüber Penicillinen und Cephalosporinen nicht aktiv. Paradoxerweise wird Imipenem, das gegenüber bakteriellen Betalactamasen sehr resistent ist, durch das bei Tieren und Menschen gebildete Enzym Dehydropeptidase I abgebaut.

Im Rahmen eines Screening-Programms fand man Cilastatin (0791) (ASHTON et al., 1980; NORRBY et al., 1981). Cilastatin, ein Inhibitor der Dehydropeptidase I, vermindert den Abbau von Imipenem in der Niere (Abb. 2). Cilastatin steht in Konkurrenz zu Imipenem. Der Dehydropeptid-Anteil des Moleküls ist entscheidend für die Blockierung der Dehydropeptidase I. Die Hemmung ist reversibel und relativ spezifisch auf die renale Dipeptidase beschränkt. Nur in sehr hohen Konzentrationen von Cilastatin wird eine gewisse inhibitorische Wirkung auf die extrarenalen Peptidasen beobachtet (SCHAH, BIRNBAUM, 1985). Andere Peptidasen, wie z.B. das Angiotensin Converting Enzym, werden durch Cilastatin nicht gehemmt (THURAU, 1985). Cilastatin inhibiert nicht die Enzymaktivität der Superoxid-Dismutase (PROCTOR et al., 1985). Diese Zink-Superoxid-Dismutase schützt die Säugetierzelle vor reaktiven Superoxid-Radikalanionen. Cilastatin hat selbst keine antibakterielle Aktivität und keinen Einfluß auf die antibakterielle Wirkung

des Imipenems. Es hat eine ähnliche Serum-Halbwertszeit und eine gleichermaßen vergleichbar niedrige Proteinbindung wie Imipenem (NORRBY et al., 1983). Wenn Cilastatin im Verhältnis 1:1 zusammen mit Imipenem kombiniert wird, so erhöhte sich die Urin-Recovery des Antibiotikums auf 70 % der verabreichten Dosis.

Imipenem/Cilastatin bewirkt in vitro keine Änderung der Phagozytoseaktivität oder der Chemilumineszenz von Granulozyten (GNARPE et al., 1984). Werden Phagozyten durch ein Antigen stimuliert, so werden Sauerstoffradikale produziert und Lichtphotonen freigesetzt. Diese Chemilumineszenz ist meßbar.

Bei Kaninchen und Affen verursachte Imipenem alleine eine akute Nekrose der proximalen Tubuluszellen (BIRNBAUM et al., 1985). Durch die zusätzliche Gabe von Cilastatin wurde die Tendenz zur Nephrotoxizität bei Labortieren verhindert (BIRNBAUM et al., 1985). Mit dem Ziel einen breiten antimikrobiellen Effekt gegen mehrere Erreger zu erhalten ohne das Risiko einer toxischen Nebenwirkung einzugehen, wurde eine Anzahl neuer Präparate entwickelt.

Abb. 1 Strukturformel für Imipenem:

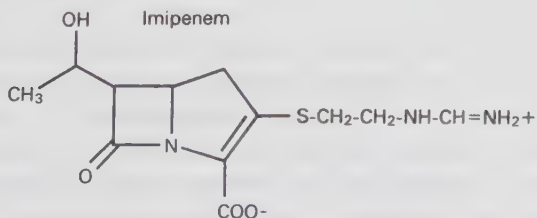
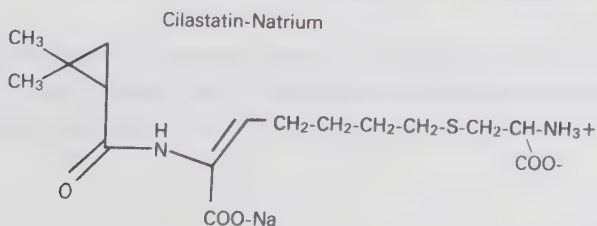


Abb. 2

Strukturformel für Cilastatin-Natrium:



C. EIGENE UNTERSUCHUNGEN

1. Problemstellung

Es war nicht Ziel dieser Untersuchung die Nephrotoxizität von Imipenem alleine darzustellen, da zum Zeitpunkt der Untersuchung Imipenem nur als Kombinationspräparat mit Cilastatin erhältlich war. Die vorliegende Arbeit soll über das Vorhandensein oder Fehlen einer Nephrotoxizität der Arzneimittelkombination Imipenem/Cilastatin Aufschluß geben. Will man eine Substanz auf dessen unerwünschte Begleiterscheinung testen, so müssen aussagekräftige Versuchsmodelle und empfindliche Meßparameter ausgesucht werden.

Da Imipenem/Cilastatin seit Anfang letzten Jahres als Arzneimittel offiziell für den therapeutischen Einsatz am Menschen zugelassen ist, muß ein Versuchsmodell gesucht werden, das die physiologischen und pathologischen Verhältnisse des Menschen imitiert.

Der Hund ist auf Grund seiner dem Menschen ähnlichen Nierenfunktion ein sehr geeignetes Versuchstier (HEIDENREICH et al., 1980). Die bei Versuchsbeginn durchgeführte einseitige Nephroektomie im Zusammenhang mit der autologen Nierentransplantation führt zu einer maximal vorgeschädigten Niere, diese reagiert um so empfindlicher auf eine nephrotoxische Substanz. Weiterhin kann beim Hund eine Nierenstanzbiopsie zur histologischen Untersuchung während der Versuchszeit durchgeführt werden.

Die Ratte ist neben der Maus das in pathophysiologischer Hinsicht best untersuchte Tier. Bei Ratten wird häufig auch im Vergleich zum Menschen eine geringere Dosis eines

Wirkstoffes benötigt, wie es z.B. für Cyclosporin A und Cephalosporin der Fall ist, um die gleichen morphologischen Zellschäden oder Anstiege von Kreatinin oder Harnstoff im Blut zu erreichen.

Als Meßparameter für die Nephrotoxizität beim Hund wurde, neben den klassischen Meßwerten von Kreatinin und Harnstoff, die ^{131}J -Hippuran Clearance gewählt. Dieses Verfahren ist eine schnelle Methode um frühe renale Störungen aufzuspüren (BLAUFOX et al., 1967). Die ^{131}J -Hippuran Clearance ist einfach durchzuführen und für die Versuchstiere nur wenig belastend. Vor allem besteht nicht die Gefahr der iatrogenen Verletzung des Ureterimplantates, die bei der Blasenkatheterisierung nicht auszuschließen ist.

Die Eigenschaften des Urinenzyms N-acetyl- β -D-glucosaminidase (NAG) machen es zu einem empfindlichen Meßparameter für die Nephrotoxizität (GIBEY et al., 1984; LOCKWOOD et al., 1979). Die Aktivität des Enzyms ist am größten in den proximalen Tubuluszellen der Ratte (LEHIR et al., 1979). Da es ein Molekulargewicht von über 130 000 Dalton hat, kann eine glomeruläre Filtration ausgeschlossen werden. Parenteral verabreichtes NAG wird sehr rasch von der Leber aufgenommen und metabolisiert (STAHL et al., 1976; SCHLESINGER et al., 1976). Die Enzymaktivität wird vom Urinsediment nicht verändert (PAUL et al., 1967). Urin bei $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ eingefroren verliert auch nach Monaten keine Enzymaktivität (KUNIN et al., 1978).

Außerdem wurden die klassischen Meßwerte wie Kreatinin, Harnstoff und die Kreatinin Clearance bei der Ratte bestimmt. In meinen Untersuchungen wurden weiter leberspezifische Parameter wie GOT, GPT, γ -GT, Gesamt-Bilirubin und die 5'-Nucleotidase (5'-ND) miteinbezogen.

Mit den genannten Versuchstiermodellen und Meßparametern sollte eine Aussage über die positive oder negative Wirkung von Imipenem/Cilastatin auf die Niere möglich sein.

2. Material und Methoden

3. Verwendete Tiere

Hunde

Es wurden 10 autologe Hundenierentransplantationen durchgeführt. Das Durchschnittsgewicht der 10 Bastardhunde beiderlei Geschlechts betrug $19,5 \pm 8,5$ kg. Die Auswahl der Mischlingshunde war zufällig.

Die Tiere wurden in Einzelboxen gehalten. Einmal täglich erhielten sie für mehrere Stunden Auslauf. Ernährt wurden die Tiere mit einem Hundefutterfertigmisch (PAL -Effem GmbH, Verden; LATZ Euskirchen). Wasser wurde ad libitum geboten.

Ratten

Es wurden 20 Sprague-Dawley Ratten (200 - 300 g) bei 19°C und 61 % rel. Luftfeuchtigkeit gehalten (SAVO-Versuchstierzuchten GmbH, Kisslegg/Allgäu). Sie erhielten eine Rattenfertigfutterdiät (Rattenhaltungsdiät Alma, Kempten). Wasser wurde ad libitum geboten.

4.1. Hunde

4.1.1. Versuchsgruppen und Beobachtungszeiten

Fünf Hunde dienten als Kontrolle. Sie erhielten keine medikamentelle Therapie.

Fünf Tiere erhielten 140 -160 mg/kg Imipenem/Cilastatin (Zienam[®] MSD München) auf drei Gaben verteilt täglich 14 Tage lang i.v.. Die Tiere blieben weitere 7 Tage im Versuch, wobei sie die Arzneikombination nicht mehr erhielten. Um

eine Emesis zu verhindern, erhielten die Tiere 5 mg Metoclopramid (Paspertin ; Kalichemie, Hannover).

4.1.2. Vorbereitung der Nierentransplantation

Die Hunde wurden 2 Wochen vor Versuchsbeginn aktiv gegen Staupe - Hepatitis - Leptospirose (Candur SHL , Behring Werke AG, Marburg) immunisiert und antihelminthisch (Telmin, Jansen, Bad Homburg) behandelt. Einen Tag vor der Operation wurde ihnen das Futter entzogen.

4.1.3. Anästhesie

Prämediziert wurde mit Atropin (Atropin-Sulfat , Drobenag GmbH, Berlin) (0,5 mg i.m.), dem Neuroleptikum N - (3' Dimethylamino - propyl) - 2 - propionylphenothiazin (Combelen , Bayer AG, Leverkusen) (4,3 mg/kg KGW i.m.) und dem Morphinderivat Levomethadonhydrochlorid (1 - Polamivet Hoechst AG, Frankfurt/Main)(1 mg/kg KGW i.m.).

Alle Tiere wurden vor Relaxation nach beginnender Atemdepression in Rückenlage auf dem Operationstisch gelagert. Die endotracheale Intubation mittels Laryngoskop erfolgte unter Benutzung eines Einmal-Endotrachealtubus (Mallinckrodt Athlone, Ireland) mit aufblasbarer Manschette. Nach der Überprüfung der regelrechten Lage wurde der Tubus blockiert und ein Bißschutz in den Mundwinkel plaziert. Die Narkose wurde mit einem Beatmungsgemisch bestehend aus Stickoxydul (N_2O 60 Vol.%), Sauerstoff (O_2 , 40 Vol.%) und Halothan (Halothan , Hoechst AG, Frankfurt/Main) (0,5 - 3 Vol.%) aufrechterhalten. Hierzu stand ein Engstrom Respiratorsystem 300 (LKB Medical AB) zur Verfügung. Die Atemfrequenz betrug 14 Atemzüge/min. mit einem mittleren Atemzugsvolumen von 350 ml. Die Beatmung erfolgte über ein geschlossenes System. Während der gesamten Anästhesiezeit wurde ein Extremitäten EKG abgeleitet. Zusätzlich war eine

Pulsregistration möglich.

Für den venösen Zugang wurde die distale Vena cephalica am Vorderfuß des Hundes mit einer Kunststoffverweilkanüle (AbboCath[®] - T 18 G, Venisystems) der Größe 18 G punktiert.

Zur Flüssigkeitssubstitution während der Dauer des operativen Eingriffs wurde eine Ringer-Lactat-Infusion (DAB 7 Braun, Melsungen) (150 ml/h) gegeben. Unmittelbar nach Anastomosenfertigstellung des Nierenimplantates wurde Furosemid (Lasix[®], Hoechst AG, Frankfurt/Main) (20 mg i.v.) verabreicht.

Zur Ausleitung der Narkose wurde die Zufuhr von Lachgas (N₂O) und Halothan beendet. Nach einigen Minuten Beatmung mit einem Luft-Sauerstoff-Gemisch erfolgte bis zum Einsetzen der Spontanatmung die Nachbeatmung mit Raumluft. Die Tiere wurden extubiert, sobald ein ausgeprägter Abwehrreflex gegen den Tubus sichtbar war.

4.1.4. Autologe Nierentransplantationstechnik

EXPLANTATION:

Es wurde eine unilaterale, heterotope, intraperitoneale Nierentransplantation durchgeführt. Der operative Eingriff erfolgte unter sterilen Bedingungen. Das bereits desinfizierte Abdomen wurde mit sterilen Tüchern abgedeckt und das Gebiet um die Inzision mit Folie (Opraflex[®], Lohmann GmbH & Co KG, Neuwied) abgeklebt. Die Inzision, ein medianer Längsschnitt, erstreckte sich von 3 cm distal des Proc. xiphoideus bis 2 cm oberhalb der Symphysis pubica. Nach Durchtrennung der Linea alba erfolgte die Eröffnung des Peritoneums. Das Einsetzen eines Bauchdeckenhalters nach Fritsch (HEBERER et al., 1983) gewährte einen guten Einblick in den Abdominalsitus. Verlagerung des Darmkonvolutes auf die kontralaterale Seite ermöglichte die Darstellung des

Nierenbettes einer Seite. Das Peritoneum wurde über dem Nierenlager durchtrennt und die Niere aus ihrer Kapsel gelöst. Dabei ist beim Hund auf die sehr ausgeprägten subkapsulären Venen (*Venae stellatae*) zu achten, die beträchtliche Blutungen verursachen können (NICKEL et al., 1967). Die renalen Gefäße wurden jeweils bis zur Aorta abdominalis bzw. zur Vena cava caudalis präpariert. Die Darstellung der Ureter erfolgte in den proximalen zwei Dritteln ihrer Verlaufsstrecken. Im Bereich des distalen Drittels wurde der Ureter an geeigneter Stelle unterbunden (Sutupak[®], Ethicon 3-0) und der präparierte Teil abgesetzt. Sodann wurden Arteria und Vena renalis in der genannten Reihenfolge nahe der großen Gefäße abgeklemmt und durchtrennt (PICHLMAYR et al., 1981).

Unmittelbar darauf wurde mittels Adapters (Adapter, Bayer Braun, Melsungen) die Arteria renalis mit dem Perfusionssystem verbunden. Die Niere wurde mit Perfusionslösung (Euro-Collins-Lösung, Biotest, Dreieich) (4 °C) und mit 5.000 I.U. Heparin (Heparinnovo[®], Novo-Industrie GmbH, Mainz) blutleer gespült. Anschließend wurde das Explantat in Eiswasser gelagert. Die kontralaterale Niere wurde nach demselben Vorgehen explantiert.

IMPLANTATION:

Zur Nierenimplantation wird die Arteria iliaca externa dargestellt und von den sie begleitenden Lymph- und Nervenbahnen befreit. Die Präparation erfolgte auf einer Länge von 5 cm. Zur Erstellung einer arteriellen End zu End Anastomose wurde die Arteria iliaca ext. distal ligiert (Sutupak[®], Ethicon 3-0) und proximal mit einer Bulldogklemme abgeklemmt.

Die Arterie wurde an der Ligatur proximal abgesetzt. Dieses Vorgehen war möglich, da der Hund eine sehr gute Kollateralversorgung des Hinterlaufes hat (NICKEL et al., 1967). Abschließend wurde die zur Arteria dorsal gelegene

Vena iliaca externa aus der sie umgebenden Gefäßscheide gelöst und auf einer Strecke von 5 cm mobilisiert. Die Anastomosierung der Vene erfolgte End zu Seit. Nach Ausklemmen eines Teiles der Venenwand mit Hilfe einer gebogenen Anastomosenklemme nach G l o v e r , wurde eine ovale Öffnung herausgeschnitten, die dem Durchmesser der Transplantatvene entsprechen sollte. Nun wurde die Nierenvene durch je einen Eckfaden mit evertierenden U-Nähten (Prolene[®], Ethicon 6-0 doppelarmiert) aufgespannt und die Fäden geknotet. Die Gefäßnaht erfolgte fortlaufend, wobei zunächst mit einem Eckfaden die Venenhinterwand und anschließend die Vorderwand genäht wurde (PICHLMAYR et al., 1981). Die arterielle Anastomose wurde End zu End durchgeführt und fortlaufend genäht. Die Eckfäden (Prolene[®] Ethicon 6-0) wurden verknotet und das Lumen der Gefäße damit aufgespannt. Analog zur Venenanastomose wurde zunächst die Hinterwandnaht fertiggestellt und anschließend die Vorderwandnaht. Nach Abschluß der Anastomosen wurde die Venenklemme geöffnet und dann die arterielle Versorgung freigegeben (PICHLMAYR et al., 1981). Eine gleichmäßige und rasch einsetzende Farbänderung des bislang blassen Nierengewebes zeigte den Erfolg des Transplantatanschlusses. Die Niere wurde lateral der Iliacalgefäße an der seitlichen Bauchwand mittels einer Knopfnah (Catgut plain[®], Ethicon 3-0) fixiert.

Die Implantation des Transplantatureters erfolgte nach der Technik von Lich-Gregoire (GREGOIRE, 1957; PICHLMAYR et al., 1981). Die Dorsalfläche der Harnblase wurde auf einer Länge von 2 cm eröffnet, indem die Muskulatur der Blasenwand, bis kurz vor der Harnblasenschleimhaut, elektrisch durchtrennt wurde. Am kaudalen Ende der Inzision wurde die Schleimhaut durch einen 4 mm großen Schnitt eröffnet. Die Ureterschleimhaut wurde nach Fixierung durch Ecknähte aufgespannt und mit Einzelknopfnähten (Prolene , Ethicon 6-0) an die Blasenschleimhaut genäht. Die Muskulatur wurde über die Ureteranastomose einschichtig mit resorbierbarem Nahtmaterial (Catgut plain[®], Ethicon 3-0) verschlossen.

Es erfolgte die gründliche Revision des Abdomens und der schichtweise Wundverschluß. Die fortlaufend genähte Peritonealnaht (Vicryl 1[®], Ethicon) war gefolgt von der Muskel- und Fasziennaht (Vicryl 1[®], Ethicon), welche ebenfalls fortlaufend durchgeführt worden waren. Die Hautnaht wurde als fortlaufende Intrakutannaht (Vicryl Ethicon 3-0) angelegt. Die Verwendung von resorbierbarem Nahtmaterial (Vicryl) zum Wundverschluß hat sich in allen Fällen bewährt. Es kam bei keinem der Versuchstiere zu einer Nahtinsuffizienz. Das kosmetische Ergebnis der Hautnaht war gut und ein Ziehen der Fäden erübrigte sich.

4.1.5. Postoperative Untersuchungen

a.) Bestimmungen im Vollblut

Das gewonnene Heparinblut wurde zu folgenden Messungen verwendet:

1. H a r n s t o f f

Zur schnellen Orientierung wurde aus Vollblut eine Harnstoffbestimmung mittels Teststreifen (Merkognost[®] Merck, Darmstadt) durchgeführt. Die Reaktionszone der Teststreifen enthält Urease, welche den Harnstoff in Kohlendioxyd (CO_2) und Ammoniak (NH_3) spaltet. Nach Diffusion durch die Gasphase färbt Ammoniak einen Teil der Indikatorzone blau. Aus der Länge der Blauzone, die eine pH-Änderung darstellt, kann mit Hilfe einer Tabelle der Harnstoffgehalt im Vollblut bestimmt werden. Diese Methode dient der groben Orientierung.

2. H ä m a t o l o g i e

Hämatokrit

Die Bestimmung des Hämatokrits erfolgte nach der Mikrokapillarmethode. Nach 5-minütiger Zentrifugation (Hämatokritzentrifuge, Fa. Hettich) zweier blutgefüllter heparinisierten Kapillaren bei 5 000 Upm, wurde der Hämatokritwert mit Hilfe einer Schablone ermittelt. Berücksichtigt wurde der Mittelwert beider Kapillaren. Die Angabe erfolgte in %.

H ä m o g l o b i n

Die Hämoglobinbestimmung erfolgte aus einer 1 : 67 600 verdünnten Blutprobe im Hematology Analyser (HA - 3, Fa. Clay Adams). Die Messung basiert auf absorptionsspektrometrischer Bestimmung des Cyanhämoglobins bei 540 nm. Einheit mg/100 ml (SI-Einheit: mg/l = 10 x mg/100 ml).

E r y t h r o z y t e n

Aus der obengenannten 1 : 67 600 Verdünnung der Blutprobe erfolgte die Bestimmung der Erythrozytenzahl mittels elektronischer Zellzählung im Hematology Analyser. Einheit mio/mm³ (SI-Einheit: T/l, T = Tera, T/l = mio/mm³).

L e u k o z y t e n

Die Bestimmung erfolgte mit dem Hematology Analyser nach einer Verdünnung der Blutprobe auf 1 : 260 und dem Zusatz eines Erythrozyten lysierenden Reagenz (Ultralyse II, Fa. Clay Adams). Einheit 1/mm³ (SI-Einheit: G/l, G = Giga, G/l = 1/mm³).

b.) Bestimmungen im Serum

Alle Serumparameter wurden mit einem automatischen Analysensystem bestimmt. Zur Eichung wurde ein Kalibrationsserum (Boehringer, Mannheim, FRG; Best. Nr.: 759 350) benutzt. Als Kontrollen dienten Kontrolloggen-L (Behring AG, Marburg, FRG; Best. Nr.: 62 3123) und Kontrolloggen-LP (Behring AG, Marburg, FRG; Best. Nr.: 62 3209).

1. K r e a t i n i n

Dieser Parameter wurde von einem automatischen Analysensystem bestimmt (Hitachi; Automatic Analys 705 2 Boehringer, Mannheim; Best. Nr.: CREA 704 130).

Prinzip: Kreatinin bildet in alkalischer Lösung mit Pikrinsäure eine gelb-orange gefärbte Verbindung, deren Farbintensität der Kreatinin-Konzentration proportional ist und bei 500 -550 nm gemessen wird (KRAFT, DÜRR, 1981).

2. H a r n s t o f f

Harnstoff wurde mit dem automatischen Analysensystem (Hitachi; Automatic Analys 705 2 Boehringer, Mannheim; Best.Nr.: BUN 620 408) gemessen. Die photometrische Harnstoffbestimmung erfolgte nach dem Prinzip der Harnstoffstoffsplaltung durch Urease (Berthelot-Reaktion). Der freigesetzte Ammoniak färbt die pH-Indikatorlösung blau. Die Zunahme der Lichtabsorption dieser Lösung ist dem Harnstoffgehalt der eingesetzten Serumprobe proportional. Gemessen wurde bei einer Wellenlänge von 415 und 376 nm (KRAFT und DÜRR, 1981).

3. B i l i r u b i n

(Hitachi; Automatic Analys 705 2 Boehringer, Mannheim;
Best.Nr.: T-BIL 704 148)

Prinzip: Gesamt-Bilirubin wird in Gegenwart von Coffein mit diazotierter Sulfanilsäure zu Azobilirubin gekoppelt. Dessen Farbintensität ist proportional der Bilirubinkonzentration und wird nach Zugabe von Tartrat-Lösung bei 578 nm gemessen (KRAFT und DÜRR, 1981).

4. G a m m a - G l u t a m y l - T r a n s f e r a s e

(Hitachi; Automatic Analys 705 2 Boehringer, Mannheim;
Best.Nr.: -GT 620 157)

Prinzip: Die γ -GT überträgt den γ -Glutamyl-Rest von L- γ -Glutamyl-3-carboxy-4-nitrobenzoat auf Glycylglycin. Das dabei freigesetzte 5-Amino-2-nitrobenzoat ist proportional der γ -GT Aktivität. Die aufgrund seiner gelben Farbe verursachte Extinktionszunahme kann bei Hg 405 nm gemessen werden (KRAFT und DÜRR, 1981).

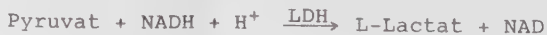
5. G l u t a m a t - P y r u v a t - T r a n s a m i n a s e

(Hitachi; Automatic Analys 705 2 Boehringer, Mannheim;
Best.Nr.: GPT opt. 620 076)

Prinzip: Das Enzym GPT katalysiert die Gleichgewichtsreaktion:



Man bestimmt die Aktivität der GPT aus der Geschwindigkeit der durch diese Reaktion hervorgerufenen Pyruvat-Zunahme. Diese wird in der gekoppelten, durch Lactat-Dehydrogenase katalysierten Indikatorreaktion bestimmt:



NADH ist Meßgröße und aufgrund seiner Absorption bei 340 nm zu bestimmen (KRAFT und DÜRR, 1981).

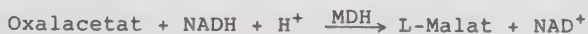
6. G l u t a m a t - O x a l a c e t a t - T r a n s a m i n a s e

(Hitachi; Automatic Analys 705 2 Boehringer, Mannheim; Best.Nr.: GOT opt. 620 068)

Prinzip: Das Enzym GOT katalysiert die Gleichgewichtsreaktion:



Man bestimmt die Aktivität der GOT aus der Geschwindigkeit der durch diese Reaktion hervorgerufenen Oxalacetat-Zunahme. Diese wird in der gekoppelten, durch Malat-Dehydrogenase katalysierten Indikatorreaktion bestimmt:



NADH ist Meßgröße und aufgrund seiner Absorption bei 340 nm zu bestimmen (KRAFT und DÜRR, 1981).

c.) Clearance Untersuchung

Einmal wöchentlich wurde eine Clearance Untersuchung durchgeführt. Um eine ausreichende Diurese zu gewährleisten, erhielten die Hunde ca. 15 ml/kg physiol. NaCl intravenös. Da es sehr wichtig ist, daß die Tiere bei der Messung der Ganzkörperaktivitätsretention sich ruhig verhalten, erhielten sie als Narkose 10 mg/kg Ketamin (Ketanest[®], Parke-Davis München, FRG) und 2 mg/kg Xylazin (Rompun[®], Bayer, Leverkusen, FRG) gemischt intramuskulär. Zur Messung wurden die Hunde in Seitenlage so unter eine Gamma-Kamera (Phillips; 5 - Zoll Na J (TI)-Kristall) gelegt, daß das Gesichtsfeld des Detektors den Kopf des Tieres erfaßte. Die Hunde erhielten 6 - 8 µCi/kg KGW ¹³¹J-Hippuran (Behring AG; Marburg; FRG) in die Vena caphalica. Die Messung der Impulse

(Cts/ml) der Spritze wird vor und nach der Injektion exakt in einem Bohrlochszintillationszähler bestimmt. Direkt nach der intravenösen Injektion von ^{131}J -Hippuran wird die zeitliche Änderung der Aktivität im Körper über 25 Min. gemessen. Blutproben werden nach 15 und 25 Min. nach der Injektion aus der Vena jugularis externa entnommen, 20 Min. bei 3000 Upm zentrifugiert und von 2 ml Plasma die Aktivität (Cts/min) in einem Bohrlochszintillationskristall bestimmt. Die Ermittlung der Gesamtclearence erfolgt durch einen Tischrechner nach der Formel:

$$\text{CL} = - \frac{\frac{dm}{dt}}{C_p}$$

(OBERHAUSEN und ROMAHN, 1968; EMRICH, 1976). Die Clearence Werte wurden auf 1m^2 Körperoberfläche bezogen. Die Körperoberfläche bei Tieren errechnet sich nach der Formel:

$$O (\text{cm}^2) = 10 \cdot \sqrt[3]{g^2}$$

d.) Histologie (Stanzbiopsie)

Am 13. Tag postoperativ abends wurde bei allen Tieren eine Nierenstanzbiopsie zur histologischen Untersuchung durchgeführt. Der Biopsievorgang läuft folgendermaßen ab: Die Hunde werden mit dem Ultrakurz-narkotikum Methohexital-Natrium (Brevemylal[®]-Natrium, Fa. Eli Lilly GmbH, Gießen, FRG) narkotisiert (3 - 4 mg/kg KGW) und auf dem Rücken gelagert. Diese Narkose dient ausschließlich dazu, die Tiere ruhig zu lagern. Nach Palpation des Transplantates wird das darüberliegende Hautareal desinfiziert (Kodan Tinktur Forte, gefärbt, S & M, Norderstedt). Durch den ca. 5 mm großen Hautschnitt ist es möglich, die geschlossene Stanzbiopsienadel (Tru-Cut[®], Travenol, Lab., Deerfield;

U.S.A.) in die Niere einzuführen, wobei darauf zu achten ist, daß der Stich in die Region des Nierenhilus und des Nierenbeckens, sowie den Gefäßen vermieden wird. Günstige Biopsiezonen sind die Nierenpole und generell kortikale Zonen. Hat man sich von der ordnungsgemäßen Lage der Nadel überzeugt, so wird der mit einer Aussparung versehene Mandrin vor und zurück bewegt. Eine ca. 1 cm lange zylinderförmige Nierenbiopsie befindet sich jetzt in der Biopsienadel. Die Probe wird in Formalin 5 % fixiert. Kurze Kompression der Biopsiestelle beschleunigt die Blutstillung. Die histologische Begutachtung der Biopsie erfolgte am Institut für Pathologie der Universität Basel (PD. Dr. MIHATSCH).

e.) Pathologie (Cytologie)

Alle Hunde wurden am 22. Tag post op. euthanasiert. Bei allen Tieren wurde post mortem eine Sektion durchgeführt. Dabei erfolgte eine makroskopische Inspektion sämtlicher Organsysteme mit Ausnahme des ZNS. Von der Niere wurde ein Gewebestück entnommen und in Formalin 5 % fixiert. Die histologische Untersuchung erfolgte ebenfalls am Institut für Pathologie der Universität Basel (PD. Dr. MIHATSCH).

4.2. Ratten

4.2.1. Versuchsgruppen und Beobachtungszeiten

A. Zehn Ratten dienten als Kontrolle. Sie erhielten 1,7 ml/100 g KGW physiol. NaCl intraperitoneal.

B. Zehn Ratten erhielten täglich 170 mg/kg KGW Imipenem/Cilastatin auf zwei Gaben verteilt 15 Tage lang i.p..

4.2.2. Probengewinnung

Von 20 Sprague-Dawley Ratten wurden alle 2 - 3 Tage, aus dem mit 70 % Isopropyläthanol gereinigten Schwanz, ca. 0,5 ml Vollblut gewonnen. Die Ratten wurden vorher im Äthertopf narkotisiert. Danach verbrachten sie 12 Stunden in Stoffwechselkäfigen. Sie erhielten in dieser Zeit Wasser ad libitum, aber kein Futter. Der Urin wurde gesammelt.

4.2.3. Probenuntersuchung

a.) Bestimmungen im Vollblut

Hämatokrit, wie bei den Hunden beschrieben.

b.) Bestimmungen im Serum

(Hitachi; Automatic Analys 705 2 Boehringer, Mannheim, FRG)

1. K r e a t i n i n
2. H a r n s t o f f
3. B i l i r u b i n

4. C h o l i n e s t e r a s e

(Boehringer, Mannheim; Best.Nr.: CHE 704 059)

Prinzip: Das Enzym Cholinesterase spaltet Acetylthiocholin in Acetat und Thiocholin. Man bestimmt die Aktivität der Cholinesterase aus der Geschwindigkeit der durch diese Reaktion hervorgerufene Zunahme an Thiocholin. Thiocholin reagiert mit Dithiobisnitrobenzoat unter Bildung von 2-Nitro-5-mercapto-benzoat, dessen Farbtintensität bei 440 nm gemessen wird (KRAFT und DÜRR, 1981).

5. G P T

6. G O T

7. A l k a l i s c h e P h o s p h a t a s e (ALP)

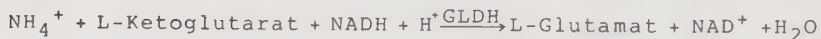
(Boehringer, Mannheim; Best.Nr.: ALP opt. 798 312)

Prinzip: P-Nitrophenylphosphat wird durch Phosphatasen in Phosphat und p-Nitrophenol gespalten. Die pro Zeiteinheit freigesetzte p-Nitriphenol-Menge ist proportional der Phosphatase-Aktivität und kann aufgrund ihrer gelben Farbe bei 405 nm bestimmt werden (KRAFT und DÜRR, 1981).

8. 5' - N u c l e o t i d a s e

(Sigma Diagnostics; St. Louis, U.S.A.; Best.Nr.: 5'-ND
265 - B)

Prinzip: 5'-ND katalysiert die Hydrolyse von AMP in Adenosin und anorganisches Phosphat. Das Enzym ADA spaltet Adenosin in Inosin und NH_4^+ . In einer gekoppelten, durch Glutamat-Dehydrogenase katalysierten Reaktion, wird NH_4^+ und L-Ketoglutarat im Zusammenhang mit NADH zu Glutamat und NAD umgesetzt:



Bestimmt wird die Abnahme von NADH bei 340 nm
(ARKESTEIJN, 1976).

c.) Bestimmungen im Urin

1. K r e a t i n i n

2. N-a c e t y l- β -D-g l u c o s a m i n i d a s e (NAG)

A. Herstellung der Standardlösungen für die Eichkurve

52,2 g 2-Amino-2-methyl-1,3-propandiol werden in 1000 ml H_2O dest. gelöst. In 20 ml von diesem alkalischen Puffer werden 3,5 mg Methylumbelliferone aufgelöst (Stock A). 10 ml von Stock A werden mit 100 ml alk. Puffer bei pH 10,3 (Stock B) gemischt (MEAD et al., 1955).

B. Herstellung der Standard-Verdünnungen

In 10 Reagenzgläser wird folgendermaßen pipettiert:

Tab. 1

Reagenzglas	ml Stock B		ml alk. Puffer pH 10,3
1.	0,1	+	9,9
2.	0,2	+	9,8
3.	0,3	+	9,7
4.	0,4	+	9,6
5.	0,5	+	9,5
6.	0,6	+	9,4
7.	0,7	+	9,3
8.	0,8	+	9,2
9.	0,9	+	9,1
10.	1,0	+	9,0

Anschließend werden 50 ml jeder Standard-Verdünnung mit 2,5 ml alk. Puffer pH 10,3 versetzt. Die Konzentration der Standard-Verdünnungen sind in der anschließenden Tabelle wiedergegeben:

Tab. 2

Reagenzglas	nMol	ng/ml
1.	0,02	3,52
2.	0,04	7,05
3.	0,06	10,57
4.	0,08	14,10
5.	0,10	17,62
6.	0,12	21,14
7.	0,14	24,69
8.	0,16	28,19
9.	0,18	31,72
10.	0,20	35,24

C. Fluoreszenz

Die Fluoreszenz wird mit einem Spektrofluorometer (Spectrofluorometer 801, Farrand Optical Co. Inc., New York) bestimmt. Die Anregung des Fluoreszenzfarbstoffes erfolgte bei 365 nm, und die Fluoreszenz wurde bei 450 nm gemessen. Eine Eichkurve wird erstellt mit:

Abszisse: nmol/ μ l

Ordinate: Extinktion

D. Substratherstellung

550 ml einer 0,04 M Citronensäurelösung werden mit 0,04 M Na_2HPO_4 mit 9 ml aqua dest. in einen 1000 ml Kolben gegeben. In 25 ml von diesem Citrat-Phosphat-Pufferlösung wird 8,5 mg 4-Methylumbelliferyl-2-acetamido-2-desoxy- β -D-glucopyranoside gegeben und bei 37 °C inkubiert.

E. Bestimmungsansatz

Nach Verdünnung der Urine auf 1:5 wird 0,005 ml verdünnter Urin und 0,5 ml Substrat 10 Min. bei 37 °C inkubiert. Die Reaktion wird mit 1,5 ml alk. Puffer pH 10,3 gestoppt. Zur Herstellung eines Leerwertes wird 0,5 ml mit 1,5 ml alk. Puffer pH 10,3 versetzt. Dann wird verdünnter Urin zugegeben. Anschließend wird die Fluoreszenz gemessen und die Konzentration anhand der Eichkurve bestimmt (LEABACK et al., 1961).

d.) Endogene Kreatinin Clearance

Den Ratten wurde ca. 0,5 ml Vollblut zur Bestimmung des Kreatinins im Serum entnommen (siehe Pkt. 4.2.2.). Anschließend wurde 12 Stunden lang der Harn gesammelt, die Menge gemessen und der Harn-Kreatiningehalt bestimmt. Die Berechnung erfolgte nach der Formel (KRAFT und DÜRR, 1981):

$$\frac{C_u \cdot V_u}{C_p \cdot Z_{\min.}} = \text{ml/min. Kreatinin Clearance}$$

e.) Pathologie (Cytologie)

10 Ratten wurden am 15. Tag nach Versuchbeginn euthanasiert. Von der Niere wurde ein Gewebestück entnommen und in Formalin 5 % fixiert. Die histologische Untersuchung erfolgte am Institut für Pathologie der Universität Basel (PD. Dr. M. MIHATSCH).

5. Statistik

Für die Ergebnisse der Einzeluntersuchung wurden Mittelwerte und Standardfehler berechnet. Bei den Hunden wurde zur Absicherung der Befunde eine Varianzanalyse durchgeführt. Bei den Ratten wurden alle Werte mit dem U-Test von Mann und Whitney auf signifikante Unterschiede geprüft.

Mittelwert:
$$\bar{x} = \frac{\sum x}{n}$$

Standardfehler:
$$sx = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}{n(n-1)}}$$

($\sum x$ = Summe der Einzelwerte; n = Anzahl der Einzelwerte)

D. ERGEBNISSE

6.1. Hunde

a.) Postoperative Komplikationen bei den Hunden

Zu Beginn der Imipenem/Cilastatin Infusion traten häufig Unverträglichkeiten auf, die sich in Erbrechen äußerten. Als erfolgreiche Unterdrückung erwies sich die Gabe von 5 mg Metoclopramid i.v. (Paspertin[®], Kalichemie, Hannover) kurz vor der Infusion des Antibiotikums. Eine verlangsamte Infusionsgeschwindigkeit verringerte zusätzlich die Häufigkeit des Erbrechens. Hauptproblem war eine Thrombophlebitis, die bei allen fünf Hunden auftrat, die das Kombinationsmittel verabreicht bekamen. Daraufhin mußte die Infusionsstelle gewechselt werden. Bei drei Hunden war deutliches Zittern kurz nach Infusionsbeginn zu beobachten. Mit Beendigung der Therapie stellte sich ein normales Verhalten wieder ein. Eine Hyperventilation trat bei zwei Hunden auf. Zwei Hunde entwickelten eine Hypersalivation. Beide Symptome verschwanden wieder nach Beendigung der Imipenem/Cilastatin Infusion.

b.) Serumanalysen

K r e a t i n i n

Von den 10 Hunden wurden 110 Blutproben untersucht. Sie sollten Aufschluß geben, in wie weit die Arzneimittelkombination die Nierenfunktion beeinflusst. Bei den Kontrolltieren kommt es am ersten postoperativen Tag zu einer Erhöhung der Kreatininkonzentration im Serum (Abb. 3). Das Gleiche gilt auch für die behandelten Hunde. Sie erhielten 14 Tage lang 140-160 mg/kg/die Imipenem/Cilastatin. Ein Unterschied

zwischen den beiden Hundegruppen ist am 3. Tag der Antibiotikagabe zu sehen. Während es bei der Kontrollgruppe zu einem Abfall kommt, steigt die Kreatininkonzentration bei der Therapie-Gruppe weiter an. Am 6. Tag kommt es auch bei den Hunden, die Imipenem/Cilastatin erhalten haben, zu einem Abfall des Kreatininspiegels. Von diesem Tag an verlaufen die Serum-Kreatininkurven bei allen Hunden im Normbereich. Der Kurvenverlauf der behandelten Tiere ist geringfügig über den der Kontrollgruppe erhöht. Am Abend des 14. Therapietages wurde eine Stanzbiopsie der Niere durchgeführt. An den folgenden Tagen ist keine gravierende Änderung der Kreatininkonzentration zu vermerken. Am 20. und 22. Versuchstag kommt es zu einem geringen Anstieg des Kreatininspiegels bei den unbehandelten Tieren, über den der Imipenem/Cilastatin Gruppe. Gleichzeitig ist ein geringer Kurvenabfall dieser Gruppe zu sehen. Dennoch bleiben alle Hunde im Normbereich.

H a r n s t o f f

Die Serum-Harnstoffkonzentrationen steigen bei beiden Gruppen bis zum dritten Versuchstag (Abb. 3). Bei den Imipenem/Cilastatin behandelten Hunden bleiben die Spiegel unter 50 mg/100 ml und fallen am Tag 6 ab, während die Werte der Kontrollgruppe auf 70 mg/100 ml bis zum sechsten Tag noch weiter ansteigen. Danach erfolgt ein kontinuierlicher Abfall bis schließlich am 13. Tag ein Mittelwert von 45,7 mg% erreicht wird. Zwei Tage danach kommt es zu einem deutlichen, kurzzeitigen Anstieg des Harnstoffspiegels bei den Antibiotikum behandelten Tieren. Am Ende des Versuches nehmen die Werte noch einmal weniger drastisch zu. Gleichzeitig sinken die Harnstoffkonzentrationen der Kontrolle auf einen Mittelwert von 33,5 mg/100 ml.

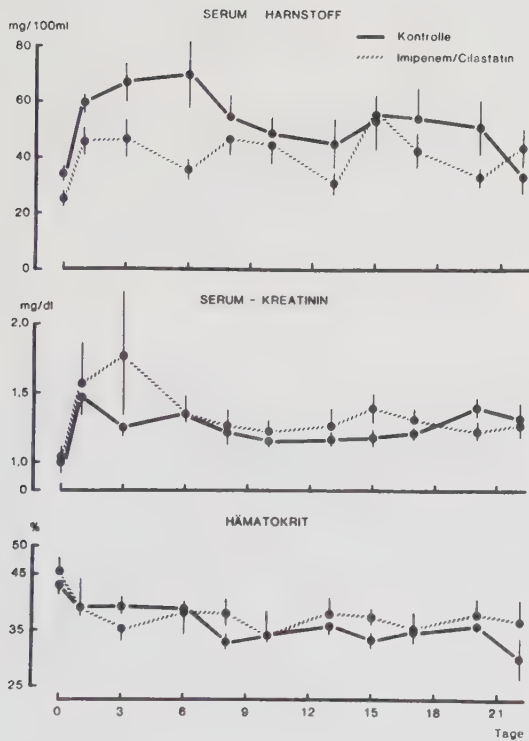


Abb. 3

Verhalten von Harnstoff und Kreatinin im Serum und Hämatokrit an autolog nierentransplantierten Hunden mit und ohne Behandlung von Imipenem/Cilastatin.

G O T und G P T

Um einen Anhaltspunkt für den Grad und die Geschwindigkeit einer Störung in der Leber zu erhalten, wurden die Transaminasen GOT und GPT untersucht. In der Abbildung 4 sind die beiden Enzymaktivitäten dargestellt. Aus der Graphik geht eindeutig hervor, daß sich die beiden Kurven annähernd gleich verhalten. Am ersten postoperativen Tag steigen die Enzymaktivitäten im Serum steil an, um sich bis zum 8. bzw. 10. Tag zu normalisieren. Von da an bewegen sich alle Mittelwerte mit ihren dazugehörigen Standardfehlern im Normbereich.

G a m m a - G T

Neben den genannten Transaminasen GOT und GPT ermöglicht, das in der Zellmembran der Leber lokalisierte Enzym γ -GT, weitere Aussagen über die Leberfunktion. Die Kurven der beiden Gruppen verlaufen annähernd parallel. Die Imipenemgruppe liegt während des gesamten Zeitraumes etwas höher (Abb. 4). Die Mittelwerte der Enzymaktivitäten liegen zwischen 2 und 3 IU/l und bewegen sich somit im Normalbereich, der bis zu 6 IU/l betragen kann.

B i l i r u b i n

Hämoglobin wird zu unkonjugiertem Bilirubin abgebaut. Daraus entsteht konjugiertes Bilirubin unter der Beteiligung des in den Mikrosomen der Leberzellen lokalisierten Enzyms Glucuronyltransferase. Eine Erhöhung des Serum-Bilirubinspiegels deutet auf Leberzellschäden hin. Die Kurven beider Gruppen schwanken um den Bereich 0,4 mg % (Abb. 5). Hierbei schneiden sich die Kurven mehrere Male. Ein signifikanter Unterschied zwischen den antibiotisch versorgten Tieren zu den Kontrollhunden geht aus den Kurven nicht hervor.

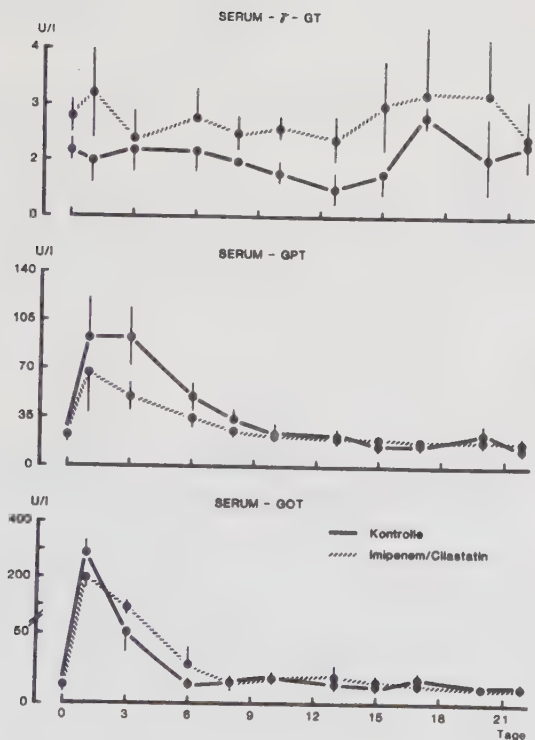


Abb. 4

Verlauf von γ -GT, GPT und GOT an nierentransplantierten Hunden bei Gabe von Imipenem/Cilastatin im Vergleich zu Kontrollen.

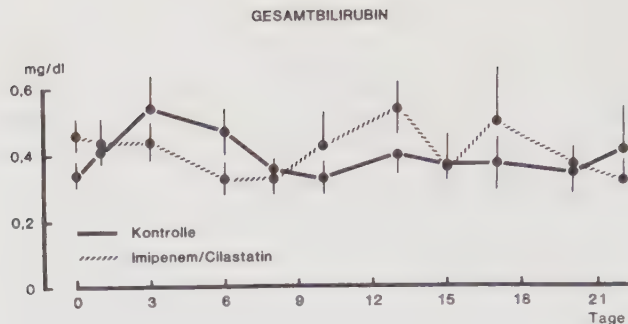


Abb. 5

Zeitlicher Verlauf der Gesamt Bilirubinkonzentration im Serum bei autolog nierentransplantierten Hunden.

c.) Clearance

In der Abbildung 6 sind repräsentativ für die beiden Gruppen die Clearancewerte dargestellt. Die Angaben beziehen sich auf 1 m² Körperoberfläche. Für jedes Tier wurden drei Clearance Untersuchungen mittels ¹³¹J-Hippuran durchgeführt. Während es zu einem leichten Abfall der Clearancekurve bei der Imipenemgruppe kommt, ist zunächst ein nahezu unveränderter Kurvenverlauf der Kontrollgruppe zu verzeichnen. Bei der zweiten Clearance Untersuchung der beiden Gruppen sind die Clearancewerte nahezu identisch (ca. 65 ml/min.). Um den Einfluß des Antibiotikums abzuschätzen, wurde die erste Clearance Bestimmung gleich 100 % gesetzt. Eine Verbesserung oder Verschlechterung der Nierenfunktion auf die Ausgangssituation bezogen, wird somit deutlich. Eine geringfügige Verbesserung der Kontrollgruppe um 5 % steht einer Verschlechterung der Therapie-Gruppe um 11 % am 8. Versuchstag gegenüber. Bei der dritten Clearance Bestimmung kommt es zur Umkehr dieser Verhältnisse. Hierbei erreichen die Hunde, die Imipenem/Cilastatin bekamen, fast den Ausgangswert wieder, während die Werte der unbehandelten Hunde um 12 % reduziert sind.

¹³¹I - HIPPURAN CLEARANCE

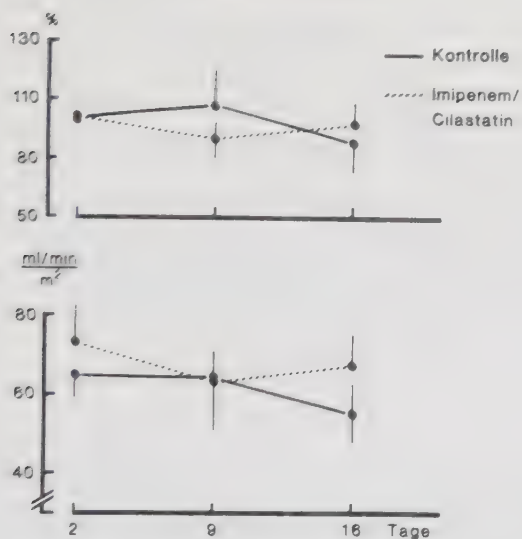


Abb. 6

¹³¹I-Hippuran Clearance bei Hunden, bei denen eine autologe Nierentransplantation durchgeführt worden war.

Bild oben: Die erste Clearance Untersuchung wurde gleich 100% gesetzt.

Bild unten: Absolut Clearance in ml/min./m².

d.) Untersuchungen im Vollblut

E r y t h r o z y t e n

Die Nierentubuluszellen bilden Erythropoetin, ein Hormon, das die Erythropoese stimuliert. Sind die Nieren nicht mehr in der Lage ausreichende Erythropoetinmengen zu produzieren, so kann dadurch eine Anämie verursacht werden. Wird eine Anämie durch nierenschädigende Substanzen hervorgerufen, so bezeichnet man diese als nephrotoxische Anämie. Von Interesse in diesem Zusammenhang ist das Verhalten der Erythrozytenzahl während der Therapie mit Imipenem/Cilastatin. Zu Beginn der Untersuchung haben beide Gruppen Erythrozyten-zahlen deutlich über $6 \cdot 10^6/\mu\text{l}$ (Abb 7). Sie schwanken während der gesamten Versuchszeit. Insgesamt jedoch läßt sich ein geringradiger Abfall feststellen. Trotzdem liegen alle Mittelwerte stets über $5 \cdot 10^6/\mu\text{l}$.

H ä m a t o k r i t

Imipenem/Cilastatin liegt als steriles Pulver vor. Die Zubereitung der Infusionslösung erfolgt durch Zugabe von 100 ml Lösungsmittel (0,9 % NaCl). Ein behandelter Hund erhielt durchschnittlich 150 mg/kg KGW Wirkstoff, bei 20 kg wurden 600 ml Testsubstanz täglich infundiert. Der Hämatokrit sollte über eine eventuelle Verschiebung im Gesamtblutvolumen Aufschluß geben. Es sind keine signifikanten Unterschiede zwischen den beiden Gruppen erkennbar (Abb. 3).

H ä m o g l o b i n

Im Rahmen der Routine-Untersuchung ist das Verhalten des Sauerstoffträgers Hämoglobin im Blut bestimmt worden. Die beiden Versuchsgruppen unterscheiden sich nicht wesentlich (Abb 7). Die Kurve der Imipenemgruppe verläuft parallel etwas über der der Kontrollgruppe.

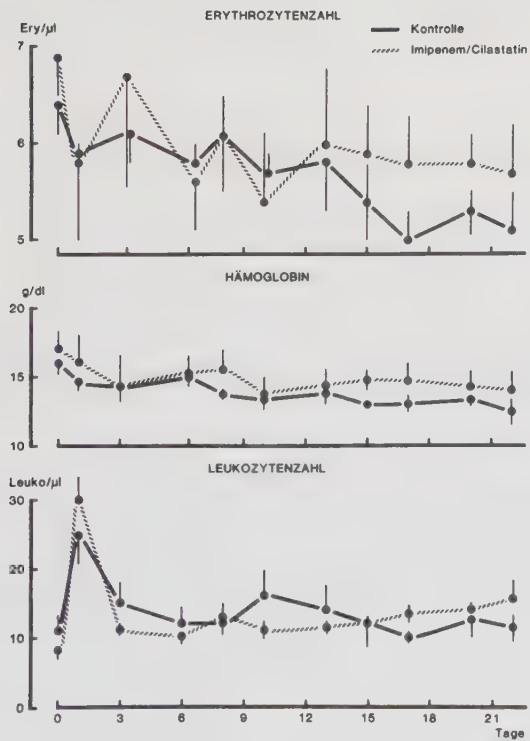


Abb. 7

Erythrozytenzahl, Hämoglobin und Leukozytenzahl vor und während Imipenem/Cilastatingabe.

Leukozytenzahl

Während des ersten postoperativen Tages war bei beiden Gruppen die Leukozytenzahl merklich erhöht (Abb. 7). Im nachfolgenden Therapieabschnitt liegen die Mittelwerte an der oberen Grenze der Norm (6.000 - 12.000/ μ l).

e.) Histologie der Hunderversuche

Kontrollhunde:

Hund A₁

Stanzbiopsie: Die histologische Untersuchung fehlt.

Pathologie (Cytologie) : Nierengewebe ohne wesentlichen pathologischen Befund.

Hund A₂

Stanzbiopsie: Geringe interstitielle Blutungen und Vakuolisierung des proximalen Tubulus.

Pathologie (Cytologie): Nierengewebe mit starker Vakuolisierung des proximalen Tubulus. Fragliche tubuläre Einschlusskörper, zahlreiche Artefakte.

Hund A₃

Stanzbiopsie: Zahlreiche kleine Einschlusskörper im proximalen Tubulusepithel, geringgradige Vakuolisierung des proximalen Tubulus.

Pathologie (Cytologie): Nierengewebe mit chronischer Pyelonephritis.

Hund A₄

Stanzbiopsie: Segmentale, fokale Glomerulosklerose in zwei Glomerula.

Pathologie (Cytologie): Niereninfarkt.

Hund A₅

Stanzbiopsie: Autolytische Stanzbiopsie ohne Tubulusvakuolisierung und ohne Entzündung.

Pathologie (Cytologie): Nierengewebe ohne wesentlichen pathologischen Befund.

Imipenem/Cilastatin Hunde

Hund B₁

Stanzbiopsie: Die histologische Untersuchung fehlt.

Pathologie (Cytologie): Nierengewebe mit starker Vakuolisierung des proximalen Tubulus (gestreckter Teil).

Hund B₂

Stanzbiopsie: Schwere Tubulusepithelvakuolisierung, keine Einschlüßkörper.

Pathologie (Cytologie): Nierengewebe mit starker Vakuolisierung des proximalen Tubulus.

Hund B₃

Stanzbiopsie: Feinvakuoläre Umwandlung des Epithels des proximalen Tubulus, keine Einschlüßkörper.

Pathologie (Cytologie): Nierengewebe mit ausgeprägter, fein bis mittelgrob vakuolärer Umwandlung des Epithels des proximalen Tubulus im gestreckten Teil.

Hund B₄

Stanzbiopsie: Stanzbiopsie ohne wesentlichen pathologischen Befund.

Pathologie (Cytologie): Nierengewebe mit geringer chronischer, histologisch unspezifischer interstitieller Entzündung, Ödem im Bereich der Markrindengrenze. Zahlreiche hyaline Zylinder besonders in Höhe der Markrindengrenze. Das morphologische Bild könnte zu einer ganz frühen ischämischen Schädigung passen.

Hund B₅

Stanzbiopsie: Kein wesentlicher Befund.

Pathologie (Cytologie): Schwere fokale lymphplasmazytäre Entzündung, möglicherweise Spätstadium nach bakterieller Entzündung.

6.2. Ratten

a.) Untersuchungen im Serum

Bei den Ratten wurden 4 und 2 Tage vor dem eigentlichen Versuchsbeginn Vollblut aus der Schwanzvene entnommen. Der in den Versuchsdiagrammen verzeichnete erste Versuchstag bildet z.T. auch einen weiteren Nullwert. An diesem Tag wurde ihnen nach Blutentnahme 170 mg/kg KGW Imipenem/Cilastatin intraperitoneal verabreicht. Die Kontrollratten bekamen 1,7 ml/100 g physiol. Kochsalzlösung i.p. appliziert. Die Nacht über verbrachten alle Ratten im Stoffwechselkäfig. Der Urin wurde gesammelt. Er enthielt bereits die Testsubstanz.

K r e a t i n i n

Wie ersichtlich (Abb. 8) unterscheiden sich die beiden Gruppen von ihren Nullwerten nicht. Beide Kurven des Serum-Kreatininspiegels verlaufen in etwa parallel. Die Kontrollratten weisen während der gesamten Untersuchungszeit um 0,1-0,2 mg/dl höhere Kreatininwerte auf.

H a r n s t o f f

Der Serum-Harnstoffspiegel ist nicht nur von der Nierenfunktion, sondern auch von extrarenalen Faktoren abhängig. Harnstoff ist das Abbauprodukt des Eiweißstoffwechsels. Eiweißreiche Ernährung oder gesteigerter Eiweißabbau bewirken einen kurzfristigen Anstieg der Harnstoffkonzentration. Aus den etwa horizontalen Kurven geht eindeutig hervor, daß der Verlauf der beiden Gruppen identisch ist (Abb. 8).

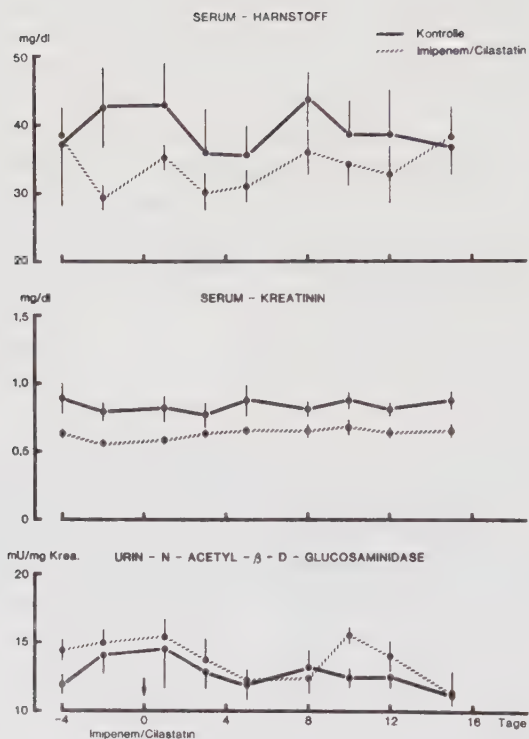


Abb. 8

Verhalten von Harnstoff und Kreatinin im Serum und NAG im Urin von Ratten mit und ohne Behandlung von Imipenem/Cilastatin.

G O T

Die GOT beider Gruppen steigt an (Abb. 9). Die Anfangswerte liegen zwischen 40 und 50 IU/l, und erreichen am Versuchsende Werte zwischen 60 und 70 IU/l. Alle Werte liegen im Normbereich. Der Vergleich der Mittelwerte mit dem U-Test nach Mann und Whitney ergab meist keine signifikanten Unterschiede. Die Kurven differieren nur an den Tagen 5, 8 und 10. Hier liegen die Mittelwerte, der mit physiol. Kochsalzlösung behandelten Ratten deutlich über denen der Antibiotika Gruppe.

G P T

Diese Transaminase zeigt bei der behandelten Gruppe eine leicht steigende Tendenz (Abb. 9). Die Enzymaktivitäten im Serum sind zu Beginn der Untersuchung 14-15 IU/l. Am Ende des Versuches steigen diese auf 18-20 IU/l an. Die Kontrollgruppe schwankt stark, ohne dabei einen eindeutigen Trend erkennen zu lassen. Es sind keine signifikanten Unterschiede zu verzeichnen. Alle Werte liegen im Bereich der Norm, erst Enzymaktivitäten über 30 IU/l gelten als erhöht.

C h o l i n e s t e r a s e

Abbildung 10 zeigt das Verhalten der Cholinesterase, einem Enzym, das in der Leber synthetisiert und in das Blut sezerniert wird. Beim ersten Nullwert ist ein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Rattengruppen zu erkennen. Im Gegensatz dazu, sind die zweiten und dritten Nullwerte nicht signifikant unterschieden. Auch während des eigentlichen Versuches sind beide Kurven identisch.

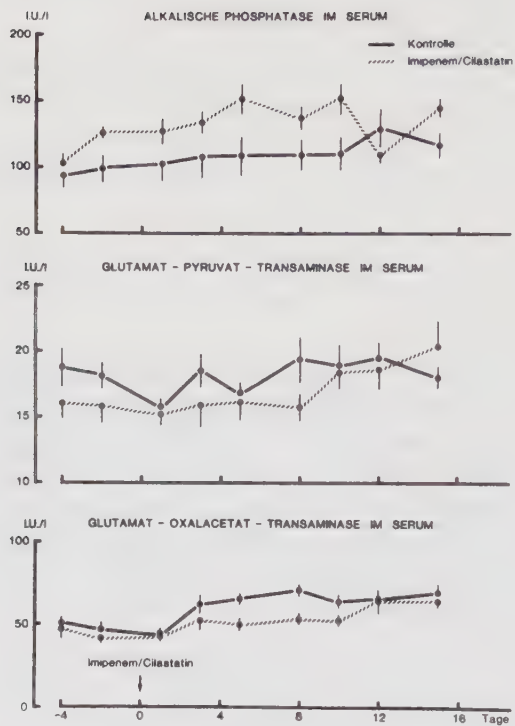


Abb. 9

Alkalische Phosphatase und Transaminasen vor und während Imipenem/Cilastatingabe.

B i l i r u b i n

Bei den Ratten ist der graphische Verlauf der Bilirubinkonzentration, dem der Hunde vergleichbar (Abb. 10). Beide Kurven haben wellenförmigen Charakter, ohne nennenswerte Unterschiede. Die Mehrheit der Mittelwerte liegt zwischen 0,3-0,4 mg/dl.

A l k a l i s c h e P h o s p h a t a s e

Erhöhungen der Phosphataseaktivität (bis 500 IU/l) können bei Erkrankungen des hepatobilären Systems und bei Osteopathien vorkommen. Die Mittelwerte (Abb. 9) der Imipenem/Cilastatin behandelten Ratten sind auch schon vor Therapiebeginn höher als die der Kontrollgruppe. Beide Gruppen halten sich im Normbereich auf.

5' - N u c l e o t i d a s e

Die 5'-ND ist in der Plasmamembran der Leber von Ratte und Mensch lokalisiert. Sie wird zur Diagnostik von Lebererkrankungen verwendet. Die Werte der Imipenemgruppe fallen von 33 auf 24 konstant ab (Abb. 10). Während sie am Anfang der Untersuchung über den Mittelwerten der Kontrollratten lagen, fallen sie in der Mitte des Untersuchungszeitraumes unter die Werte der Kontrollgruppe.

H ä m a t o k r i t

Der Hämatokrit der laufenden Proben (Abb. 11) resultiert in einem deutlichen Abfall von 46 auf 35 %. Am 8. Versuchstag steigt der Wert auf 36-37 % an und bleibt bei diesem Niveau.

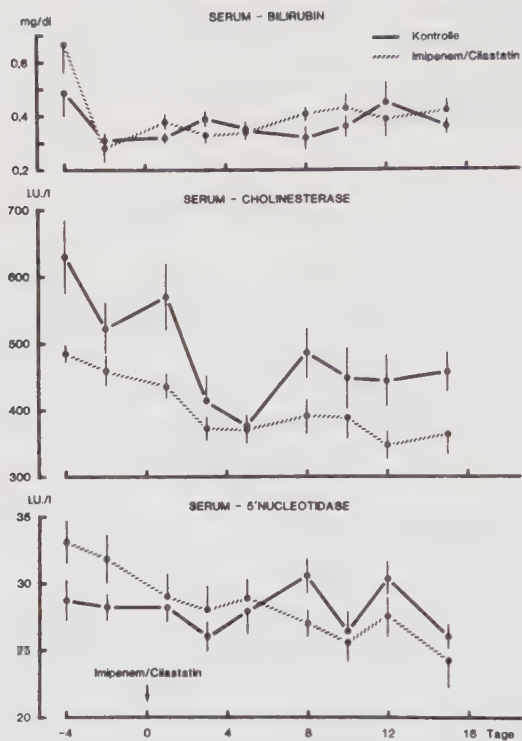


Abb. 10

Verlauf von Bilirubin, Cholinesterase und 5'-Nucleotidase vor und nach Gabe von Imipenem/Cilastatin im Vergleich zu Kontrollen.

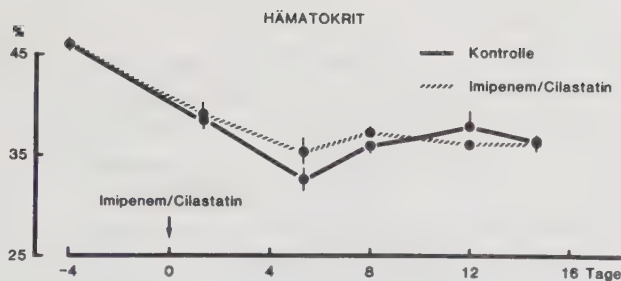


Abb. 11

Hämatokrit vor und während Imipenem/Cilastatinapplikation.

c.) Bestimmungen im Urin

Kreatinin

Kreatinin ist ein Metabolit aus dem Muskelstoffwechsel. Sein Molekulargewicht ist 113 und damit glomerulär filtrierbar. Die Bestimmung der Kreatininkonzentration im Urin ist zur Berechnung der Kreatinin Clearance notwendig. Kreatinin fällt in beiden Gruppen gleich stark von 1,7 mg/dl auf 0,8 mg/dl ab (Abb. 12).

N-a c e t y l- β -D-g l u c o s a m i n i d a s e

In letzter Zeit gewinnt das Enzym NAG zur Prüfung nephrotoxischer Substanzen zunehmend an Bedeutung. Aus der Graphik geht eindeutig hervor, daß die Kurvenverläufe annähernd identisch sind (Abb. 8). Insgesamt bewegen sich alle Mittelwerte im Bereich von 11,1 - 15,5 mU pro mg Kreatinin.

U r i n v o l u m e n

Das Urinvolumen ist zur Berechnung der Kreatinin Clearance notwendig. Die Urinvolumina liegen in der Kontrollgruppe zwischen 1,6 und 4,3 ml (Abb. 12). Diese Abbildung stellt einen signifikanten Unterschied zur Imipenem/Cilastatin Gruppe am 1. Untersuchungstag und am 8. Tag nach Therapiebeginn dar. Hier weist die Antibiotikagruppe einen Wert von 10,8 ml gegenüber 3,2 ml bei den Kontrollratten auf. Insgesamt liegen die Werte der behandelten Gruppe über denen der Kontrollgruppe und steigen während der Versuchszeit an.

d.) Endogene Kreatinin Clearance

Die Kreatinin Clearance hat die größte Aussagekraft was die Nierenfunktion anbetrifft. Kontrollen und Versuchstiere zeigen im Verlauf keine Änderung der Kreatinin Clearance (Abb. 12). Außer am 2. Untersuchungstag sind keine signifikanten Abweichungen zwischen den beiden Gruppen berechnet worden.

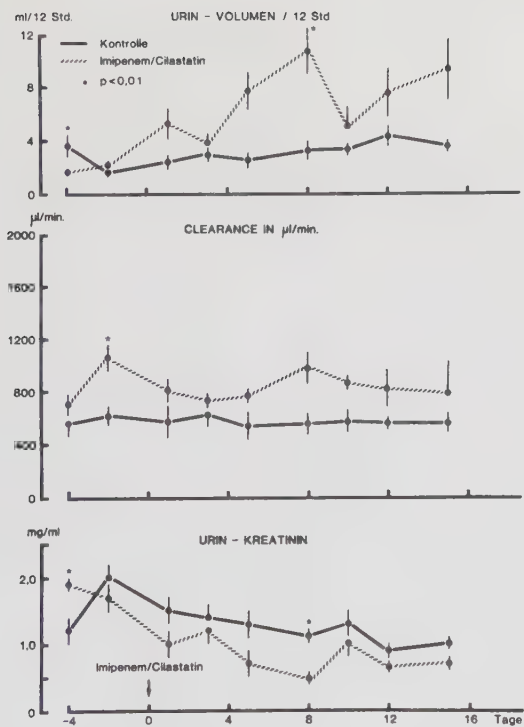


Abb. 12

Verhalten von Urinvolumen/12 Stunden, Kreatinin Clearance und Kreatiningehalt im Urin, gemessen 4 Tage vor bis 15 Tage nach Gabe von Imipenem/Cilastatin.

e.) Pathologie (Cytologie)

Am Ende des Versuches wurden alle Nieren histologisch untersucht (Tab. 3).

Ratten	Einschlußkörper	Vakuolen	Kalkab- lagerungen	Sonstiges
A ₁	o	o	o	o
A ₂	o	o	o	o
A ₃	o	o	o	o
A ₄	o	o	o	o
A ₅	+	+	+	+
B ₁	o	o	o	o
B ₂	o	o	o	o
B ₃	o	o	o	o
B ₄	o	o	o	o

Tab. 3

Histologie der Rattenversuche

o = Veränderungen nicht vorhanden, + = Veränderungen vorhanden.

F. DISKUSSION

7.1. Therapieversuche mit Hunden

a.) Nebenwirkungen

Die häufigsten durch Imipenem/Cilastatin ausgelöste Arzneimittelnebenwirkung, bei den hier untersuchten Hunden, war eine Thrombophlebitis. Ähnliche Beobachtungen wurden von NORRBY (1985) und Marier (1983) beim Menschen beschrieben. In einer anderen Untersuchung zur Verträglichkeitsprüfung von Imipenem hatten 8 % von 208 Patienten eine Venenentzündung an der Infusionsstelle (CALANDRA et al., 1983). Allerdings wies die Vergleichsgruppe, die Cephalosporin erhielt, die gleiche Häufigkeit (8 %) auf. Bei einem Patienten mußte wegen einer ausgeprägten Thrombophlebitis die Arzneimittelkombination Imipenem/Cilastatin abgesetzt werden. Alle Patienten wurden wegen schwerer Infektionen behandelt und erhielten 250 mg Imipenem/Cilastatin pro Person alle 6 Stunden. Eine Thrombophlebitis ist häufig als Reaktion der Venen bei intravenöser Gabe von Cephalosporinen zu sehen. Die genauen Ursachen hierfür sind noch unbekannt (PRINCE et al., 1983). Unerklärlich sind zur Zeit die Gründe einer Thrombophlebitis bei Infusion von Imipenem/Cilastatin.

Bei vier Hunden war bei Therapiebeginn Erbrechen aufgetreten. Auch in der Humanmedizin wird Erbrechen oft als eine unerwünschte Nebenwirkung dieses Arzneimittels registriert (WILEY et al., 1985). Diese Nebenwirkung des Gastrointestinaltrakts wird mit einer Häufigkeit von 0,9 % angegeben (CALANDRA et al., 1985). Aber auch postoperative Azotämien könnten eine Ursache dafür darstellen. Bei drei Hunden war Zittern zu beobachten. Neurologische Ausfallerscheinungen werden auf akute Elektrolyt-

verschiebungen, auf Grund des hohen Natriumanteils von Imipenem, zurückgeführt (MEYER, 1985). Hypernatriämien könnten ursächlich für das Erbrechen verantwortlich sein. Bei Penicillinen wird als mögliche Ursache für das Auftreten von epileptiformen Krämpfen das gute Penetrieren durch die Bluthirnschranke verantwortlich gemacht (SEAMANS, 1968). Die aufgetretene Hyperventilation bei zwei Hunden kann ebenfalls auf Elektrolytverschiebungen zurückgeführt werden. Hyperventilation wurde zweimal bei Patienten beobachtet (MARIER et al., 1983; CALANDRA et al., 1983).

b.) Serumanalysen

Die Nieren haben multiple Funktionen; darunter die der Elimination von Abfallprodukten aus dem Metabolismus des Körpers und die Synthese verschiedener Hormone um nur einige Leistungen zu nennen. Der Begriff Niereninsuffizienz beschreibt das Unvermögen der Nieren die harnpflichtigen Stoffe in genügendem Maße auszuschcheiden und wird erst manifest, wenn 2/3 der gesamten Nephrone funktionsuntüchtig geworden sind (STERN et al., 1983). Unter Niereninsuffizienz versteht man also einen Funktionszustand und keinen speziellen Krankheitsbegriff.

Bei Verdacht auf eine Niereninsuffizienz steht die Laboruntersuchung am Anfang. Zuerst wird eine Anreicherung von harnpflichtigen Substanzen (Azotämie) bemerkt. Mit fortschreitendem Krankheitsverlauf kommt es bei Hunden zu den klinischen Symptomen wie: Erbrechen, Diarrhoe, Anorexie und Dehydratation (OSBORNE et al., 1983). Die Vorgänge führen zu dem klinischen Syndrom der Urämie.

Bei allen Hunden ist ein deutlicher Anstieg der Harnstoff- und Kreatininkonzentration nach Nierentransplantation typisch. Zwei Gründe sind hierfür verantwortlich: Erstens eine Verminderung der Nierenfunktion verursacht durch die Narkosemittel und zweitens der vermehrte Anfall von

Kreatinin und Harnstoff, bedingt durch das Operationstrauma. Bei der Anwendung von Halothan und Combelen kommt es zur Hypotonie des Blutdruckes (RAVENTOS, 1956; SHORT et al., 1968; NEUMANN et al., 1975). Die bei operativen Eingriffen bewußt erzeugte Blutdrucksenkung kann für die lebenswichtigen Organe sehr gefährlich sein. WATSCHINGER und Mitarbeiter (1954) fanden bei einem gezielten systolischen Low-Pressure von 80-60 mm Hg eine Verminderung der Nierenfunktion von 12-68 % bei minimalen Harnmengen, welche sich einige Tage nach dem Eingriff wieder völlig normalisierte. Bei einer arteriellen Blutdrucksenkung unter 50 mm Hg stellte CARSTENSEN (1955) fest, daß die Nierentätigkeit vollkommen eingestellt wird. Es ist sicher, daß eine verminderte Ausscheidung einen Anstieg der harnpflichtigen Substanzen herbeiführt.

Die Nierentransplantation ist unweigerlich mit der Traumatisierung von viel Gewebe verbunden. Da es bei der Durchtrennung der Bauchmuskulatur zur Zerstörung des Sarkolemmes kommt, wird Kreatinin, ein Produkt des endogenen Muskelstoffwechsels, vermehrt im Blut anzutreffen sein. DIETEL (1931) beobachtete beim Menschen häufig eine Erhöhung der Harnstoff- und Kreatininkonzentration bis zum 3. Tag. Er macht eine Anhäufung stickstoffhaltiger Substanzen in der Blutbahn, welche beim Zerfall der nach der Operation nekrotisch werdenden Gewebsteile frei werden, dafür verantwortlich. HEBERER et al. (1976) sieht einen Grund in der vermehrten postoperativen Harnstoffbildung und der negativen Stickstoffbilanz als Folge der Katabolie, was ein Überwiegen der Proteinolyse gegenüber der Proteinsynthese bedeutet. Harnstoffanstiege haben auch andere Gründe. Neben einem beschleunigten Proteinkatabolismus wie bei Trauma oder Verbrennungen sind auch bei hoher Proteinzufuhr (Fütterung) Harnstoffanstiege bis zu 80 mg/dl möglich (STREET et al., 1968; WATSON et al., 1981). Dieses bedeutet, daß man den Harnstoffspiegel im Serum zur Beurteilung der Nierenfunktion nicht ausschließlich verwenden sollte.

Am dritten Versuchstag ist ein deutlicher Unterschied in der Serum-Kreatininkonzentration beider Hundegruppen zu sehen. Der um 0,52 mg/dl höhere Kreatininspiegel bei den Versuchstieren der Imipenemgruppe, ist durch den Hund B₄ verursacht, der einen Kreatininwert von 3,6 mg/dl hatte. Dieser Wert bedingt eine Erhöhung des Mittelwerts, verbunden mit einer großen Streubreite und ist für den Unterschied bei beiden Gruppen verantwortlich. Dennoch verhalten sich die Serum-Kreatininkurven der beiden Hundegruppen gleichsinnig. Berücksichtigt man das bisher gesagte, so ergibt sich keine nachteilige Wirkung von Imipenem/Cilastatin auf die Funktion der Niere harnpflichtige Substanzen auszuschcheiden. Die postoperativen Anstiege von Kreatinin und Harnstoff sind anscheinend ausschließlich durch die Narkose und Operation bedingt.

c.) Leber-Funktionswerte

Die Leber nimmt eine zentrale Stellung im gesamten Stoffwechselgeschehen ein. Sie reguliert unter anderem die Ausscheidung von Metaboliten, sowie Fremd- und Giftstoffen.

Bei der Halothangabe kommt es neben Hypotonie zur Tachypnoe (BIRT et al., 1965). Wird Combelen als Prämedikation bei der Halothannarkose eingesetzt, so wird der Blutdruckabfall akzentuiert (WESTHUS et al., 1961). Auch Hyperkapnie tritt während der Halothannarkose auf (MUNSON et al., 1960). Hypotonie und Hyperkapnie bedingen Leberfunktionsstörungen (MORRIS et al., 1963). Weiter wurde postoperativ Hypoxie beobachtet (CONWAY et al., 1963), die zusätzlich Leberfunktionsstörungen nach sich zieht (SIMS et al., 1951). Aus den oben genannten Tatsachen können dann Lebernekrosen resultieren (BABIOR et al., 1967 und MEUTEN et al., 1984).

Die Heftigkeit pathologischer Vorgänge am vaskularisierten Organ drücken sich häufig im Freiwerden von Enzymen aus. In dieser Untersuchung sind deutliche postoperative

Aktivitätsanstiege der Leberenzyme zu sehen. Die zehn Hunde der Gruppen A und B zeigen eine Koinzidenz in Aktivität und Anstieg der GOT und GPT. Nach Halothannarkosen beobachtete SCHWEIKERT und KAPFHAMMER (1965) bei Hunden, die zu experimentellen Untersuchungen in der Transplantationschirurgie eingesetzt waren, Anstiege der GOT und GPT bis zum fünffachen der Normalwerte. Sie führen diese gesteigerte Enzymaktivität im Blut auf Hypoxie in den Leberzellen zurück. Auch bei der Gabe von Phenothiazin stieg die GOT-Aktivität kurzzeitig an (KESSLER et al., 1957). Sie normalisierte sich nach einigen Tagen wieder. Postoperative Erhöhungen der GOT und GLDH nach Halothannarkosen und zusätzlicher Prämedikation mit Combelen wurde von WINTZER et al. (1979) gesehen. Sie behaupten, daß das vermehrt im Blut anzutreffende Enzym GOT aus den traumatisierten Skelettmuskelzellen stammt. Leberfunktionsstörungen sollen die GLDH Anstiege bedingen. Es wird vermutet, daß die GLDH aus zerstörten Mitochondrien der Leberzellen stammt. Leberaffektionen, hervorgerufen durch Halothan und Combelen, sind als Ursache der kurzzeitigen Erhöhungen der Transaminasen im Serum bei der hier vorgelegten Arbeit zu werten. Die postoperativen Aktivitätserhöhungen von GOT und GPT betreffen beide Versuchsgruppen gleichermaßen. Das Antibiotikum Imipenem/Cilastatin hat somit keine negativen Wirkungen auf die Leber. Hätte Imipenem/Cilastatin eine hepatotoxische Wirkung so müßte, bei einer durch Halothan und Combelen vorgeschädigten Leber, die Erhöhung der Leberenzymaktivitäten potenziert werden und länger anhalten als im Vergleich zur Kontrollgruppe. Dies ist nicht der Fall.

Die γ -GT ist nicht nur in der Leber lokalisiert, sondern auch in Pankreas, Milz und Dünndarm zu finden. Sie wird aber praktisch nur bei intra- und posthepatischer Cholestase vermehrt im Serum angetroffen (GHYS et al., 1975). Bei beiden Gruppen liegt die Enzymaktivität während der gesamten Versuchsdauer klar im Bereich der Norm. Somit ist kein Hinweis einer Gallenwegserkrankung gegeben.

Bei der Betrachtung der Serum-Bilirubinkurven erkennt man, daß sich alle Werte beider Versuchsgruppen im Bereich der physiologischen Schwankungsbreite befinden. Die Bilirubinwerte deuten auf keinen schädigenden Einfluß des Kombinationspräparates Imipenem/Cilastatin hin.

d.) Nieren-Funktion

Ein geschädigtes Organ kann sich oft einige Zeit nach einmaliger Einwirkung einer Noxe wieder vollständig erholen. Die autologe Nierentransplantation ruft eine leicht tolerable Schädigung der Niere hervor. Aus den Untersuchungen über den Einfluß der Narkotika auf die Nierentätigkeit kann geschlossen werden, daß meistens die Nierendurchblutung während der Narkose herabgesetzt wird. Eine nicht unerhebliche Behinderung der Nierenfunktion ist die Folge davon.

Bis zum zweiten postoperativen Tag hat sich die Funktion des autologen Nierentransplantates weitgehend erholt und normalisiert. Dieses beweist die Clearance Untersuchung. Sie ergab eine unbeeinflusste tubuläre Sekretion des ^{131}J -Hippurans. Die Clearance, ausgedrückt in ml/min/m^2 , zeigt bei der Imipenem/Cilastatin Gruppe keinen deutlichen Unterschied in der Sekretionsleistung der proximalen Tubuluszellen im Vergleich zur Kontrollgruppe. In Abbildung 6 wurde die erste Clearance Untersuchung gleich 100 % gesetzt. Eine wesentliche Steigerung der Nierenfunktion bezogen auf die Ausgangsbestimmung ist in der Kontrollgruppe nicht zu beobachten. Dies läßt den Schluß zu, daß die Nierentätigkeit am 2. Versuchstag wieder ausreichend vorhanden ist. Diese Feststellung erlaubt eine Aussage über den Einfluß einer Imipenem/Cilastatin Therapie auf die Nierenfunktion. Die 14 tägige Behandlung mit der Arzneimittelkombination bewirkt keine Verschlechterung der Sekretionsleistung der Niere.

MEYER (1985) beobachtete unter Imipenem/Cilastatin Gabe einen Anstieg der Kreatinin Clearance bei Patienten mit allogener Nierentransplantation. Als Begründung wird angegeben, daß die Therapie mit dem Betalactamantibiotikum in eine Phase fiel, in der häufig eine Verbesserung der Transplantatfunktion zu erwarten ist.

e.) Hämatologische Befunde

Anämien beim Hund treten logischerweise mit chronischen Nierenversagen auf. Hauptgrund der Anämie ist die mangelnde Erythropoese (WEISS et al., 1984). Am ersten postoperativen Tag tritt bei beiden Hundegruppen ein Abfall der Erythrozytenzahl im Vergleich zu den Werten vor der Nierentransplantation auf. Der Hauptgrund hierfür sind die unvermeidbaren intraoperativen Blutungen. FOUAD und Mitarbeiter (1963) berichten, daß eine Erniedrigung der Erythrozytenzahl auch nach der Applikation von Combelen und Polamivet möglich ist. Die Blutverluste sind nicht schwerwiegend. Nur die genaue Zählung der Erythrozyten macht diese deutlich. Am dritten postoperativen Tag steigt die Erythrozytenzahl wieder an. In den drei Versuchswochen sind keine nachteiligen Reaktionen von Imipenem/Cilastatin auf die Erythropoese festzustellen. Es muß betont werden, daß 14 Verabreichungstage nicht ausreichend sind um chronisches Nierenversagen hervorzurufen und somit das Bild einer nephrotoxischen Anämie zu erzeugen.

Bei der Hämatokrit- und Hämoglobinbestimmung sind keine pathologischen Veränderungen erkennbar. Es sind weder Verschiebungen im Plasmavolumen auf Grund einer zusätzlichen Infusion des Antibiotikums gegeben, noch ist der Gehalt des Sauerstoffträgers bei der behandelten Hundegruppe im Vergleich zu den Kontrollhunden verändert.

Am ersten Tag nach der Nierentransplantation ist ein deutlicher Anstieg der Leukozytenkurve bei beiden Hunde-

gruppen vorhanden. Dieser spiegelt das typische Bild einer postoperativen Leukozytose wieder. Weitere Besonderheiten sind nicht festzustellen. Die Leukozytenzahl bleibt von der Gabe von Imipenem/Cilastatin unbeeinflusst.

f.) Histologische Veränderungen der Nieren

Die Befunde der histologischen Untersuchung sind vielfältig, wobei Vakuolen in den proximalen Tubuluszellen die einzig typischen Veränderungen darstellen. Bei 2 unbehandelten Hunden sind Vakuolen in den proximalen Tubuluszellen zu sehen. Die Vakuolisierung der Hauptstücke ist die auffallendste Veränderung nach Saccharose- und Glucoseapplikation (TRUMP et al., 1962). Eine Insuffizienz der proximalen Tubuluszellen verursacht ähnliche Veränderungen. Diese zelluläre Insuffizienz wird auch durch einen ischämischen Schaden hervorgerufen (ZOLLINGER und MIHATSCH, 1978). Eine relative Ischämie könnte durch eine Verengung der Arteria renalis bedingt sein. Eine Stenose der Hauptarterie ist nicht selten nach Nierentransplantationen (SCHACHT et al., 1976). In allogenen Nierentransplantaten werden Hypertension und Immunreaktionen für eine Stenose als Ursachen gefunden (PORTER et al., 1963). Blutdruckmessungen wurden bei den Hunden nicht vorgenommen, so daß hierfür keine Aussage möglich ist. Beim Hund A₂ muß die Stenose im Bereich der End zu End Anastomose während der gesamten Versuchsdauer bestanden haben, weil die Vakuolisierung bei der Stanzbiopsie und bei der Sektion vorhanden war.

Bei einem Hund ist vom Histologen eine chronische Pyelonephritis dokumentiert worden. Da die Kontrollhunde keinerlei antibiotische Versorgung erhielten, ist an eine bakterielle Infektion zu denken. Beim Hund gelangen die Bakterien überwiegend auf hämatologischem Weg in die Niere. Die Fimbrien auf einigen Escherichia coli Arten ermöglichen es den Bakterien auf dem Uroepithelium zu haften (ALLEN et al., 1985) und verhindern, daß sie während der Miktion

mechanisch aus dem Harnsystem entfernt werden. Die urinogene Entstehung wird vor allem bei Obstruktion der ableitenden Harnwege beobachtet. Bemerkenswert ist, daß dieser Hund keine Störung des Allgemeinbefindens zeigte. Serum Harnstoff und Kreatinin waren nicht erhöht. Wahrscheinlich war noch nicht 2/3 der Niere von der chronischen Pyelonephritis erfaßt worden. Die anderen histologischen Veränderungen treten einmalig auf und stellen somit keine Bedeutung dar.

Fünf Mal wurden Vakuolen in den proximalen Tubuluszellen bei den Hunden der Imipenem/Cilastatin Gruppe registriert. Eine ischämische Schädigung der Zellen, hervorgerufen durch eine Stenose der Arteria renalis, reicht als Erklärung hierfür nicht aus. ALLEN (1951) deutete an, daß eine hohe Konzentration von Saccharose im Tubuluslumen einen osmotischen Gradienten erzeugt, welcher zur Passage von Wasser aus den peritubulären Kapillaren anregt. Anstelle von Saccharose könnte Imipenem diese Reaktion auslösen. Der Inhalt der Vakuolen kann mehr Aufschluß darüber geben. Wichtig ist, daß keine Einschußkörper in den histologischen Schnitten zu finden waren. Einschußkörper, mit amyloidem Aussehen, sind typische Indikatoren für die Nephrotoxizität von Gentamicin (KOSEK et al., 1974). Bei Hunden wie bei Ratten werden diese amyloiden Einschußkörper gesehen (DOBYAN et al., 1982). Cyclosporin A wirkt ebenfalls nephrotoxisch. Hierbei wird eine Zunahme an Lysosomen in den proximalen Tubuluszellen gesehen (WALLACE, 1985) und vergrößerte Mitochondrien werden beobachtet (MIHATSCH et al., 1983). Bei den Imipenem behandelten Hunden sind außer Vakuolen keine weiteren nennenswerten Veränderungen in den Nierenzellen festzustellen. Die Ausscheidung von harnpflichtigen Stoffen wird offensichtlich dadurch nicht behindert. Auch die tubuläre Sekretion des ¹³¹J-Hippurans bleibt im Vergleich zur Kontrollgruppe unbeeinflusst.

7.2. Therapieversuche an Ratten

Die Ratten unterlagen nicht dem Transplantationsstreß wie die Hunde. Postoperative Veränderungen sind deshalb nicht gegeben. Zwei Nullwerte wurden vor Versuchsbeginn bestimmt um die Adaptation der Ratten an den Versuchsablauf zu registrieren.

a.) Serumanalysen

Die Serum-Kreatininkonzentration ändert sich während des gesamten Versuches bei beiden Gruppen nicht. Zwar besitzen die Gruppen unterschiedliche Nullwerte, doch im weiteren Versuchsablauf sind keine Unterschiede zu ihren jeweiligen Nullwerten sichtbar. Die Nullwertsdifferenzen sind als rein zufällig zu erklären. Alle Mittelwerte sind im Bereich der Norm für Ratten ($0,71 \pm 0,04$ mg/dl) (GHYS et al., 1975). Das Kombinationspräparat Imipenem/Cilastatin beeinflusst in keiner Weise die Ausscheidung von Kreatinin durch die Niere.

Die Serum-Harnstoffwerte liegen überwiegend im physiol. Bereich (SCHMIDL, 1978). Einige Mittelwerte sind bei beiden Versuchsgruppen leicht erhöht. Verminderte Futteraufnahme kann bei Ratten zu diesem Anstieg des Harnstoffs führen (SCHWARTZ et al., 1973). Während des Aufenthaltes in den Stoffwechselkäfigen wurde den Ratten 12 Stunden lang das Futter entzogen. Dies war notwendig damit keine Futterreste den gesammelten Urin verunreinigten. Leicht erhöhte Harnstoffwerte sind also auf den Futterentzug zurückzuführen.

b.) Leber-Funktionswerte

Bei Ratten ist ein Anstieg der Transaminasen ein sehr feiner Indikator einer Parenchymzellschädigung der Leber (KORSRUD et al., 1972 und 1973). Bei der Interpretation der Transaminasenaktivität muß immer die Parenchymreserve der

Leber berücksichtigt werden. Die Enzymaktivitäten für die hier untersuchten Ratten liegen im Bereich der Norm, wie sie bereits andere Untersucher festgestellt hatten (SCHWETZ et al., 1974; LAZAR et al., 1974; COOK et al., 1973). Leberparenchymschäden sind bei der Anwendung dieses Betalactamantibiotikums nicht zu erwarten. Die großen Schwankungsbreiten bei dem Sekretionsenzym Cholinesterase machen deutlich, daß sie keine eindeutig negative Aussage über das Verhalten des Enzyms unter Imipenem/Cilastatin Therapie zulassen. Ein toxischer Einfluß des Antibiotikums ist nicht feststellbar. Auch die 5'-Nucleotidase, die in der Leber von Ratte und Mensch lokalisiert ist (GOLDBERG, 1973), gibt keinen Hinweis auf eine schädigende Wirkung des Imipenems. Diese Feststellung ist auf die geringen Unterschiede der Kurvenverläufe der beiden Rattengruppen gestützt. Die alkalische Serumphosphatase gehört wie die 5'-Nucleotidase zu den Exkretionsenzymen. Die Enzymaktivitäten beider Gruppen liegen in den von SCHMIDL (1978) angegebenen Normalbereichen für Sprague-Dawley Ratten. Eine Vergiftung mit Hepatotoxinen liegt also nicht vor. Die Imipenem/Cilastatin Application bewirkt keine Unterschiede der Serum-Bilirubinkonzentration im Vergleich zur Kontrolle. Während der Therapie befinden sich alle Werte im Bereich der Norm.

c.) Hämatologische Befunde

Da das Blutvolumen ca. 8 % des Körpergewichts darstellt, kann man bei den hier untersuchten Ratten ein Blutvolumen von ca. 20 ml unterstellen. Die Blutabnahmen, alle 2-3 Tage, blieben nicht ohne Reaktion auf den Hämatokrit. Dieses ist in der Abb. 11 zu erkennen. Die Hämatokritabnahme ist also auf die wiederholte Blutabnahme zurückzuführen und nicht auf die Gabe des Antibiotikums oder bei den Kontrollratten auf die physiol. Kochsalzgabe.

d.) Nieren-Funktion

MOELLER, McINTOSCH und VAN SLYKE (1928) fanden eine konstante Beziehung zwischen der Konzentration von Harnstoff im Plasma und seiner Ausscheidung durch die Niere. VAN SLYKE kam so zu dem Exkretionskoeffizienten, den er "Clearance" nannte. Hierunter versteht man dasjenige Plasmavolumen, das in einer bestimmten Zeiteinheit durch die Nierentätigkeit von einer bestimmten Substanz befreit oder geklärt wird. Eine geeignete Clearance-Substanz setzt voraus, daß das Blut bei einer einmaligen Passage durch die Nieren durch Filtration im Glomerulus praktisch vollständig von dieser Substanz befreit wird. Dieser Anforderung entspricht das Kreatinin.

Die Clearancekurven der beiden Rattengruppen unterscheiden sich während des Versuches nicht wesentlich von ihren beiden Nullwerten. Daraus läßt sich folgern, daß durch die Gabe von Imipenem/Cilastatin die Kreatinin Clearance sich nicht ändert. Beim Menschen wurde auch keine Verschlechterung der Kreatinin Clearance beobachtet, wobei eine wesentlich geringere Dosis verabreicht wurde (500 mg Imipenem und 500 mg Cilastatin pro Person)(DRUSANO et al., 1985). Ein nephrotoxischer Stoff hätte eine verstärkte Abnahme der Clearance zufolge. Das Antibiotikum Imipenem im Zusammenhang mit dem Dehydropeptidase I-Inhibitor Cilastatin bewirkt keine Abnahme der Clearance. Eine Nephrotoxizität ist nicht gegeben.

Zur Beurteilung der Nephrotoxizität von Aminoglykosid-Antibiotika wurde häufig sowohl die Serumkonzentration von Harnstoff und Kreatinin als auch die Kreatinin Clearance bestimmt (LANE et al., 1977). ADELMANN et al (1979) sah bei der Applikation von Gentamicin und Netilmicin an Hunden, daß eine Erhöhung der Urin NAG früher nachweisbar war als ein Anstieg von Harnstoff oder Kreatinin. Da die NAG, Schäden an den proximalen Tubuluszellen anzeigt und andere Antibiotika wie Cephalosporine auch eine akute Nekrose der proximalen

Tubuluszellen verursacht (APPEL et al., 1977), ist es wichtig die Reaktion dieses Enzyms nach Gabe von Imipenem und Cilastatin an Ratten zu prüfen.

Deutlich ist anhand der Graphik (Abb. 8) zu sehen, daß die behandelte Gruppe sich nicht von den Kontrollratten unterscheidet. Somit lassen sich keine nachteiligen Wirkungen des neuen Antibiotikums auf die proximalen Tubuluszellen beobachten.

e.) Histologische Veränderungen der Niere

Eine sichtbare Schädigung der Niere ist nicht vorhanden, da keine pathologischen Veränderungen in der Imipenem/Cilastatin Gruppe bei der histologischen Einzeluntersuchung gegeben waren.

Schlußbemerkungen

Bei der Interpretation aller Ergebnisse von Hunde- und Rattenversuche kann zusammenfassend gesagt werden, daß das neue Breitband - β - Lactamantibiotikum Imipenem in Kombination mit dem Cilastatin keine nephrotoxischen und hepatotoxischen Effekte gezeigt hat.

Untersuchungen haben demonstriert, daß Imipenem ohne Zugabe von Cilastatin zu Nekrosen der proximalen Tubuluszellen führt (BIRNBAUM et al., 1985). HUMES und Mitarbeiter (1985) ordnen die Mechanismen nephrotoxischer Substanzen in drei Klassen ein: prärenale, intrarenale und obstruktive (postrenale) Ursachen. STEIN et al, (1985) sieht für die Erniedrigung der glomerulären Filtrationsrate vier Hauptursachen: Hämodynamische Alterationen, Veränderung der

Permeabilität der Glomerulumkapillaren, Obstruktion des Tubuluslumens und Rückfluß aus dem Tubulus. Häodynamische Ursachen sind vergleichbar mit prärenalen, Permeabilitätsstörungen sind vergleichbar mit renalen und Verstopfung des Tubuluslumens verbunden mit Rückfluß sind identisch mit postrenalen Ursachen.

Als Ort der Schädigung durch Gentamicin wird die Plasmamembran gesehen (SCHWERTZ et al., 1985), die somit als intrarenale Ursache einzuordnen ist. In den blutseitigen Membranbereichen der Tubuluszellen sind spezielle Carrier-mechanismen lokalisiert. Die Paraaminohippursäure benutzt ein solches aktives natriumabhängiges Transportsystem. Probenecid hemmt den aktiven Transport der Paraaminohippursäure. Cephaloridin wird bei Kaninchen auch aktiv in die proximalen Tubuluszellen transportiert mittels des gleichen Carriers wie Paraaminohippursäure (TUNE 1972; TUNE et al., 1973). Da der Transport und die Nephrotoxizität von Cephaloridin durch Inhibitoren, die den Transport für organische Substanzen hemmen, verhindert wird, ist man zu der Schlußfolgerung gelangt, daß die Nephrotoxizität auf hohe intrazelluläre Konzentration von Cephaloridin basiert. Diese hohen Konzentrationen werden auf aktiven Transport zurückgeführt (CHILD und DODDS, 1966; TUNE et al., 1974). Der nephrotoxische Effekt konnte durch die Gabe von Probenecid verhindert werden (CHILD et al., 1967; Tune, 1972). Es stellt sich die Frage, ob Imipenem den gleichen Transportmechanismus wie Cephaloridin benutzt und ob Cilastatin genauso wie Probenecid wirkt? Zwei Feststellungen müssen vorausgeschickt werden: Erstens, Cilastatin hemmt den aktiven Transport von Imipenem (THURAU, 1985) und zweitens, ^{131}J -Hippuran verhält sich wie Paraaminohippursäure (MESCHAN et al., 1963). Da Cilastatin bei den behandelten Hunden keine Änderung der ^{131}J -Hippuran Clearance im Vergleich zur Kontrollgruppe bewirkte, wäre anzunehmen, daß Imipenem einen anderen Carrier als die Para-aminohippursäure benutzt. Würde Cilastatin wie Probenecid wirken so wäre denkbar, daß es den aktiven Transport von ^{131}J -Hippuran blockiert, da ja

Paraaminohippursäure wie ^{131}J -Hippuran wirkt. Die genauen Ursachen der Nephrotoxizität von Cephaloridin auf molekularer Ebene ist jedoch noch unbekannt (HOOK et al., 1985).

Cyclosporin, das zur Immunsuppression nach Transplantationen eingesetzt wird, hat nephrotoxische Nebenwirkungen. Geringe Konzentrationen von Cyclosporin gehen mit den Plasmamembranen der Nierentubuluszellen eine relativ spezifische Wechselwirkung ein (HUMES et al., 1985). Ob Cilastatin diese Nephrotoxizität verhindern kann, wäre im einzelnen noch zu prüfen.

G. ZUSAMMENFASSUNG

Das neue Betalactamantibiotikum Imipenem wurde in Kombination mit dem Enzyminhibitor Cilastatin an Ratten und an autolog nierentransplantierte Hunde verabreicht. Die klinisch relevante bakterizide Dosis wurde um das 3 1/2 fache erhöht. Der Einfluß der Arzneimittelkombination auf die wichtigsten Nierenfunktionsparameter im Serum wie Kreatinin, Harnstoff und die Enzymaktivität der NAG im Urin von Ratten wurden untersucht. Desweiteren wurden bei den Ratten die Kreatinin und bei den Hunden die ^{131}J -Hippuran Clearance bestimmt. Im Serum war eine zusätzliche Untersuchung der Leberfunktionsparameter wie GOT, GPT, ALP, γ -GT, CHE, und Bilirubin möglich.

Imipenem/Cilastatin verursachte keinen Anstieg des Kreatinin- oder Harnstoffspiegels im Serum bei den Ratten und bei den durch die Nierentransplantation maximal vorgeschädigten Nieren der Hunde. Die Kreatinin Clearance, die an in Stoffwechselkäfigen gehaltenen Ratten bestimmt worden war und die ^{131}J -Hippuran Clearance an Hunden, erfuhr zu keiner Zeit der 14tägigen Versuchsdauer eine Erniedrigung durch das Kombinationspräparat. Das NAG/Kreatinin Verhältnis, welches bei Schäden der proximalen Tubuluszellen im Urin von Ratten erhöht ist, blieb konstant.

Sämtliche Enzymaktivitätsbestimmungen im Serum ergaben keinen Hinweis einer Leberzellschädigung durch Imipenem/Cilastatin; weder bei den Ratten noch bei den Hunden.

Da die Nephrotoxizität von Imipenem durch Cilastatin aufgehoben werden konnte, sollte die Kombination von Cilastatin mit anderen nephrotoxischen Arzneimittel diskutiert werden.

Summary

An experimental trial to assess the tolerability of Imipenem/Cilastatin on rats and renal autologous transplanted dogs.

A fixed combination of a new β -lactam antibiotic, named imipenem and cilastatin, an inhibitor of the renal dehydropeptidase I, were administered to unoperated rats and dogs, which received renal autologous transplantation. A 3 1/2 fold increase of the clinically relevant dosage was employed. The influence of this drug combination on serum creatinin, urea and the enzyme activity of NAG in the urine of rats was examined. Moreover creatinin clearance of rats and O-Iodohippuric acid (I-131) clearance of dogs were determined. Additionally the liver enzymes GOT, GPT, γ -GT, CHE and bilirubin were investigated.

Imipenem/cilastatin caused no increase in serum creatinin or urea in rats and dogs, which underwent renal autologous transplantation to produce maximal injured kidneys. No change in creatinin clearance was noted. There was also no worsening in O-Iodohippuric acid (I-131) clearance throughout the two weeks of dosing. The NAG/creatinin ratio, which is increased during proximal tubule injury in rats remained constant.

All serum enzyme activities indicated no evidence of liver cell impairment resulting from the use of imipenem/cilastatin.

Because cilastatin could prevent the nephrotoxic side effect of imipenem it would be of interest to utilize cilastatin to reduce the nephrotoxic side effect of other drugs.

G. LITERATURNACHWEIS

1. **ADELMANN, R.D., CONZELMANN, G., SPRANGLER, W., and ISHIZAKI, G.** 1979
Comparative nephrotoxicity of gentamicin and netilmicin: Functional and morphological correlations with urinary enzyme activities. In: Diagnostic significance of enzymes and proteins in urin. (Dubach, U.C., and Schmidt, U.,Eds.) 166-188 Hans Huber Verlag, Bern-Stuttgart-Wien
2. **ALBERS-SCHÖNBERG, G., ARISON, B., HENSENS, O., and HIRSHFIELD, J.** 1978
Stucture and absolute configuration of thienamycin. Am. Chem. Soc. 100, 6491-6496
3. **ALLEN, A.C., (Ed.)** 1951
The kidney: Medical and surgical diseases. Grune and Statton, Inc., New York
4. **ALLEN, T.A., and JAENKE, R.** 1985
Pyelonephritis in the dog. Compend. Contin. Educ. Pract. Vet. 7, 421-428
5. **APPEL, G.B., and NEU, H.** 1977
The nephrotoxicity of antimicrobial agents. New Engl. J. Med. I, 663-670
6. **ARKESTEIJN, C.L.** 1976
A kinetic method for serum 5'-nucleotidase using stabilised glutamate dehydrogenase. J. Clin. Chem. Clin. Biochem. 14, 155-162
7. **ASHTON, W.T., BARASH, L., KAHAN, F., and SUNDELOF, J.** 1980
Z-2-Acylamino-3-substituted propenoats, inhibitors of the renal dipeptidase (dehydropeptidase I) responsible for thienamycin metabolism. 20th Interscience Conference on Antimicrob. Agents and Chemother., New Orleans, Abstract 271
8. **BABIOR, B., and DAVIDSON, C.** 1967
Postoperative massive liver necrosis. New Engl. J. Med. 276, 645-652
9. **BARZA, M.** 1984
Imipenem/Cilastatin Euro. J. Clin. Microbiol. 3, 3-6
10. **BIRNBAUM, J., KAHAN, F.M., KROPP, H., and MACDONALD, J.** 1985
Carbapenems, a new class of beta-lactam antibiotics. Am. J. Med. 78, (Suppl. 6A), 3-21
11. **BIRT, C., and COLE, P.** 1965
Some physiological effects of closed circuit halothane anaesthesia. Anaesthesia, 20, 258-268
12. **BLAUFOX, D.M., and MERRILL, J.P.** 1967
Evaluation of renal transplant function by Iodhippurate sodium I 131. JAMA 202, 575-578

13. **BRUNS, W.** 1983
Antibiotika und Chemotherapie.
In: Allgemeine und spezielle Pharmakologie und Toxikologie. Forth, W. (Hrsg.)
BI Verlag Mannheim-Wien-Zürich
14. **CALANDRA, G., RICCI, F., WANG, C., and BROWN, K.** 1983
Safety and tolerance comparison of imipenem-cilastatin to cephalothin and cefazolin.
J. Antimicrob. Chemother. 12, (Suppl.D), 125-131
15. **CALANDRA, G., and WANG, C.** 1985
Nebenwirkungen unter Imipenem/Cilastatin: Eine Auswertung weltweiter klinischer Erfahrungen.
14. Intern. Kongress Chemother., Kyoto, Japan, 12-13
16. **CARSTENSEN, G.** 1955
Nierenschädigung und Narkose.
Anaesthesist, 4, 207
17. **CHILD, K.J., and DODDS, M.G.** 1966
Mechanism of urinary excretion of cephaloridine and its effects on renal function in animals.
Brit. J. Pharmacol. 26, 108-119
18. **CHILD, K.J., and DODDS, M.G.** 1967
Nephron transport and renal tubular effects of cephaloridine in animals.
Br. J. Pharmacol. Chemother. 30, 354-370
19. **CONWAY, C.M., and PAYNE, J.** 1963
Postoperative hypoxaemia and oxygen therapie.
Brit. Med. J. I, 844-845
20. **COOK, J.A., MARCONI, E., and DI LUZIO, N.** 1974
Lead, cadmium, endotoxin interaction: Effects on mortality and hepatic function.
Toxicol. Appl. Pharmacol. 28, 292-302
21. **DASCHNER, F.** 1980
Patientenorientierte Krankenhaushygiene: Womit zuerst beginnen?
Klinikerarzt 9, 494
22. **DIETEL, F.G.** 1931
Vergleichende Untersuchungen über Beeinflussung des Blutchemismus (Kreatinin, Harnsäure, Rest-Stickstoff und Cholesterin) durch Operation in Narkose und Lokalanästhesie.
Arch. Klin. Chir. 163, 452-487
23. **DOBYAN, D.C., CRONIN, R., and BULGER, R.** 1982
Effect of potassium depletion on tubular morphology in gentamicin-induced acute renal failure in dogs.
Lab. Invest. 47, 586-594
24. **DRUSANO, G., STANDIFORD, H., and RIVERA, G.** 1985
Safety and tolerability of multiple doses of imipenem/cilastatin.
Clin. Pharmacol. Ther. 37, 539-543
25. **EMRICH, D. (Hrsg.)** 1976
Nuklearmedizinische Diagnostik und Therapie.
Thieme Verlag, Stuttgart

26. **FOUAD, K.** 1963
Die Einwirkung von Combelen und Polamivet auf das Blutbild des Hundes.
Tierärztl. Wschr. 8, 148
27. **GHYS, A., THYS, O., HILDEBRAND, J., and GEORGES, A.** 1975
Relation between hepatic and renal function tests and ultrastructural changes induced by 2-N-methylpiperazinomethyl-1,3-diazafluoranthene I-oxide (AC-3579), a new experimental antileukemic drug.
Toxicol. Appl. Pharmacol. 31, 13-20
28. **GIBBY, R., DUPOND, J., and HENRY, J.** 1984
Urinary N-acetyl-beta-D-glucosaminidase (NAG) isoenzyme profiles: a tool for evaluating nephrotoxicity of aminoglycosides and cephalosporins.
Clin. Chim. Acta. 137, 1-11
29. **GNARPE, H., BELSHEIM, J., BLOMQUIST, C., and LUNDBÄCK, A.** 1984
Stimulation of granulocyte functions in vitro by imipenem and the renal enzyme inhibitor MK 0791.
Antimicrob. Agents Chemother. 25, 179-181
30. **GOLDBERG, D.M.** 1973
5'-Nucleotidase: Recent advances in cell biology, methodology and clinical significance.
Digestion 8, 87-99
31. **GREENSTEIN, J.P.** 1948
Advances in enzymology and related subjects of biochemistry. Nord, F.F., (Ed.)
Interscience Publish, Inc., New York 117-169
32. **GREGOIRE, W.** 1957
L'anastomose uretero-vesicale laterale.
Acta Urol. Belg. 25, 4-10
33. **HEBERER, G., KOLE, W., und TSCHERNE, H. (Hrsg.)** 1983
Chirurgie
Springer Verlag, Berlin-Heidelberg-New York
34. **HEBERER, G., SCHULTIS, K., und HOFFMANN, K. (Hrsg.)** 1975
Postaggressionsstoffwechsel. Grundlagen, Klinik, Therapie.
Symposium der Chirurg. Klinik Universität München
Schattauer Verlag Stuttgart-New York
35. **HEIDENREICH, O., und FÜLLGRAFF, G.** 1980
Niere und Elektrolyte
In: Allgemeine und spezielle Pharmakologie und Toxikologie.
Forth, W. (Hrsg.)
BI Verlag, Mannheim-Wien-Zürich
36. **HOOK, J.B., and SMITH, J.** 1985
Biochemical mechanisms of nephrotoxicity.
Transpl. Proc. 17, (Suppl. 1), 41-50

37. **HUMES, H.D., JACKSON, N., O'CONNOR, R., and HUNT, D.** 1985
Pathogenetic mechanisms of nephrotoxicity: Insights into cyclosporin nephrotoxicity.
Transpl. Proc. 17, (Suppl. 1), 51-62
38. **JAFFE, M.** 1985
Weltweite klinische Erfahrungen mit Imipenem.
FAC 4-5, 1215-1223
39. **KAHAN, J.S., KAHAN, F.M., GOEGELMAN, R., and STAPLEY, E.** 1976
Thienamycin, a new beta-lactam antibiotic. I. Discovery and isolation.
16th Interscience Conference on Antimicrob. Agents Chemother. Chicago, Ill. Abstract 227
40. **KAHAN, J.S., KAHAN, F.M., MILLER, T.W., and BIRNBAUM, J.** 1979
Thienamycin, a new beta-lactam antibiotic. I. Discovery taxonomy, isolation and physical properties.
J. Antibiotics 32, 1-12
41. **KAHAN, F.M., KROPP, H., SUNDELOF, J., and BIRNBAUM, J.** 1983
Thienamycin: Development of imipenem-cilastatin.
J. Antimicrob. Chemother. 12 (Suppl. D), 1-35
42. **KESADO, T., HASHIZUME, T., and ASAHI, Y.** 1980
Antibacterial activities of a new stabilized thienamycin, N-formimidoyl thienamycin in comparison with other antibiotics.
Antimicrob. Agents Chemother. 17, 912-917
43. **KESSLER, G., HALPERN, P., and BRODY, H.** 1957
Serial serum glutamic oxalacetic transaminase (SGOT) and electrophoresis studies in thorazine-induced jaundice.
J. Lab. Clin. Med. 50, 250-256
44. **KORSRUD, G.O., GRICE, H., and McLAUGHLAN, M.** 1972
Sensitivity of several serum enzymes in detecting carbon tetrachloride-induced liver damage in rats.
Toxicol. Appl. Pharmacol. 22, 474-483
45. **KORSRUD, G.O., GRICE, H., GOODMAN, T., and McLAUGHLAN, M.** 1973
Sensitivity of several serum enzymes for the detection of thioacet-amide-dimethylnitrosamine- and diethanol-amine- induced liver damage in rats.
Toxicol. Appl. Pharmacol. 26, 299-313
46. **KOSEK, J.C., MAZZE, R., and COUSINS, M.** 1974
Nephrotoxicity of gentamicin.
Lab. Invest. 30, 48-57
47. **KRAFT, W., und DÜRR, U. (Hrsg.)** 1981
Kompendium der Klinischen Laboratoriumsdiagnostik bei Hund Katze Pferd
Verlag M. & M. Schaper, Hannover

48. **KROPP, H., SUNDELOF, J.G., KAHAN, F.M., and BIRNBAUM, J.** 1980
MK 0787 (N-formimidoyl thienamycin): Evaluation of in vitro and in vivo activities.
Antimicrob. Agents Chemother. 17, 993-1000
49. **KROPP, H., SUNDELOF, J.G., HAJDU, R., and KAHAN, F.M.** 1982
Metabolism of thienamycin and related carbapenem antibiotics by the renal dipeptidase, dehydropeptidase-I.
Antimicrob. Agents Chemother. 22, 62-70
50. **KUNIN, C.M., CHESNEY, R., CRAIG, W., and ENGLAND, A.** 1978
Enzymuria as a marker of renal injury and disease: Studies of N-acetyl-beta-D-glucosaminidase in the general population and in patients with renal disease.
Pediatrics 62, 751-760
51. **LANE, A.Z., WRIGHT, G., and BLAIR, D.** 1977
Ototoxicity and nephrotoxicity of amikacin.
Am. J. Med. 62, 911-914
52. **LAZAR, G., SERRA, D., and TUCHWEBER, B.** 1974
Effect of cadmium toxicity of substances influencing reticuloendothelial activity.
Toxicol. Appl. Pharmacol. 29, 367-376
53. **LEABACK, D., and WALKER, P.** 1961
Studies on glucosaminidase. 4. The fluorimetric assay of N-acetyl-beta-glucosaminidase.
Biochem. J. 78, 151-156
54. **LEANZA, N.J., WINDONGER, K.J., MILLER, T.W., and CHRISTENSEN, B.G.** 1979
N-acetimidoyl- and N-formimidoyl thienamycin derivatives: Antipseudomonal beta-lactam antibiotics.
J. Med. Chem. 22, 1435-1436
55. **LEHIR, M., DUBACH, U., and SCHMIDT, U.** 1979
Quantitative distribution of lysosomal hydrolases in the rat nephron.
Histochem. 63, 245-251
56. **LOOCKWOOD, T.D., and BOSMANN, B.** 1979
The use of urinary N-acetyl-beta-D-glucosaminidase in human renal toxicology. I. Partial biochemical characterization and excretion in humans and release from the isolated perfused rat kidney.
Toxicol. Appl. Pharmacol. 49, 323-335
57. **MacGREGOR, R.R.** 1985
Probleme der gegenwärtigen Antibiotika-Therapie.
14. Intern. Kongress Chemother., Kyoto, Japan 3-4
58. **MARIER, R.L., McCLOSKEY, R., DICKENSON, G., and SANDERS, C.** 1983
Comparative clinical trial of imipenem-cilastatin (N-formimidoyl-thienamycin-dehydropeptidase inhibitor) and cefazolin.
J. Antimicrob. Chemother. 12, (Suppl. D), 133-139

59. **MEAD, J., SMITH, J., and WILLIAMS, R.** 1955
The biosynthesis of the glucuroninides of
umbelliferone and 4-methyl-umbelliferone and their use
in fluorimetric determination of beta-glucuronidase.
Biochem. J. 61, 569-574
60. **MESCHAN, I., SCHMID, H., WATTS, F., and WITCOFSKI, R.**
1963
The utilization of radioactiv iodinated hippuran for
determination of renal clearance rates.
Radiology 81, 437-446
61. **MEUTEN, D.J., and PECQUET-GOAD, M.** 1984
Hepatic necrosis associated with the use of halothane
in a dog.
J. Am. Vet. Med. Assoc. 4, 478-480
62. **MEYER, G.** 1985
Klinische Verträglichkeit von Imipenem/Cilastatin
hinsichtlich Nierenfunktion und Gerinnungsparameter.
FAC 4-5, 1117-1125
63. **MIHATSCH, M.J., THIEL, G., RYFFEL, B., and ZOLLINGER, H.** 1983
Morphological findings in kidney transplants after
treatment with cyclosporine.
Transpl. Proc. 15, (Suppl. 1), 2821-2835
64. **MOELLER, E., MacINTOSH, J., and VAN SLYKE, D.** 1929
Studies of urea excretion II. Relationship between
urine volume and the rate of urea excretion by normal
adults.
J. Clin. Invest. 6, 427-465
65. **MORRIS, L., and FELDMAN, S.** 1963
Influence of hypercarbia and hypotension upon liver
damage following halothane anaesthesia.
Anaesthesia, 18, 32-40
66. **MUNSON, E.S., LARSON, C., BABAD, A., and REGAN, M.**
1966
The effects of halothane, fluroxene and cyclopropane
on ventilation. A comparative study in man.
Anesthesiology, 27, 716-728
67. **NEUMANN, H., and WINTZER, H.** 1975
Das Verhalten des systolischen Blutdruckes während der
Fluothane-Narkose beim Pferd.
Berl. Münch. Tierärztl. Wschr. 88, 365-367
68. **NICKEL, R., SCHUMMER, A., and SEIFERLE, E. (Hrgs.)**
1967
Anatomie der Haustiere.
Paul Parey Verlag, Berlin- Hamburg
69. **NORD, C.E., KAGER, L., PHILLIPSON, A., and STIERSTEDT, G.** 1984
Der Einfluß von Imipenem/Cilastatin auf die fäkale
Flora.
Eur. J. Clin. Microbiol. 3, 27-29

70. **NORRBY, S.R., ALESTIG, K., FERBER, F., and KAHAN, F.** 1981
Enhanced urinary recovery of N-formimidoyl thienamycin (MK 0787) on administering an inhibitor of the renal dipeptidase responsible for antibiotic metabolism. Current Chemother. Immunother. (Proc. 12th intern. Congress of Chemother.) 1, 743-745
71. **NORRBY, S.R., ALESTIG, K., BJORNEGARD, B., and KAHAN, F.** 1983
Urinary recovery of N-formimidoyl thienamycin (MK 0787) as affected by coadministration of N-formimidoyl thienamycin dehydropeptidase inhibitors. Antimicrob. Agents Chemother. 23, 300-307
72. **NORRBY, S.R.** 1985
Imipenem/Cilastatin im Vergleich mit Aminoglycosid/Clindamycin: Klinische Wirkung, Sicherheit und effektive Kosten. 14. Intern. Kongress Chemother., Kyoto, Japan 15-16
73. **OVERHAUSEN, E., und ROMAHN, A.** 1968
Bestimmung der Nierenclearance durch externe Gammastrahlungsmessung. In: Radionuklide in Kreislau fforschung und Kreislau fdiagnostik. Hoffmann, G., and Höfer (Hrgs.), Schattauer Verlag, Stuttgart- New York
74. **OSBORNE, C., and POLZIN, D.** 1983
Azotemia: A new review of what's old and what's new. Part I. Definition of terms and concepts. Compend. Contin. Educ. Pract. Vet. 5, 497-508
75. **PAUL, W., SCHAPIRO, A., and GONICK, H.** 1967
Studies of human kidney and urine beta-glucuronidase: I. Biochemical characteristics. Enzyme 8, 47-66
76. **PICHLMAYR, R., und TIDOW, G.** 1981
Operationsmethoden und Operationstechnik - Standardverfahren. In: Transplantationschirurgie. Pichlmayr, R. (Hrgs.), Springer Verlag, Berlin-Heidelberg-New York
77. **PORTER, K.A., THOMSON, W., OWEN, K., and KENYON, J.** 1963
Obliterative vascular changes in four human kidney homotransplantats. Brit. Med. J. II, 639-645
78. **PRINCE, R., and VILLAR, A.** 1983
Side-effect profiles of newer-generation cephalosporins. Drug. Intell. Clin. Pharm. 17, 656-657
79. **PROCTOR, R.A., and TEXTOR, J.** 1985
Cilastatin does not alter superoxid dismutase activity. Antimicrob. Agents Chemother. 28, 691-692
80. **RAVENTOS, J.** 1956
The action of Fluothane - a new volatile anaesthetic. Brit. J. Pharmacol. 11, 394-410

81. REEVES, D.S., CHAPMAN, S., DAVIES, A., and FERBER, F. 1983
Human pharmacokinetics of N-formimidoyl thienamycin alone and in combination with a dehydropeptidase inhibitor (MK 791) and probenecid.
In: Proc. of the 13th Intern. Congress Chemother. Spitzzy, K., and Karrer, K. (eds.), 95, 30-33
82. RICHMOND, M.H. 1981
The semi-synthetic thienamycin derivative MK 0787 and its properties with respect to a range of beta-lactamses from clinically relevant bacterial species.
J. Antimicrob. Chemother. 7, 279-285
83. SCHACHT, R.A., MARTIN, D. WHEELER, C., and LANSIN, A. 1976
Renal artery stenosis after renal transplantation.
Am. J. Surg. 131, 653-657
84. SCHAH, P., und BIRNBAUM, J. 1985
In vitro Aktivität von Imipenem in einem Modell zur Simulation von Pharmakokinetik-Parametern in menschlichem Blut.
FAC 4-5, 1089-1104
85. SCHLESINGER, P., RODMAN, J., and FREY, M. 1976
Clearance of lysosomal hydrolases following intravenous infusion, the role of the liver in the clearance of beta-glucuronidase and N-acetyl-beta-D-glucosaminidase.
Arch. Biochem. Biophys. 177, 606-614
86. SCHMIDL, M. 1978
Laboruntersuchungen für die Diagnose und Verlaufskontrolle in der Veterinärmedizin.
Boehringer, Mannheim
87. SCHWARTZ, E., TÖRNABEN, J., and BOXIL, G. 1973
The effects of food restriction on hematology, clinical chemistry and pathology in the albino rat.
Toxicol. Appl. Pharmacol. 25, 515-524
88. SCHWEIKERT, C., und KAPFHAMMER, V. 1965
Zur Frage der Hepatotoxizität des Halothans. Ein tierexperimenteller Beitrag unter besonderer Berücksichtigung der Hypoxydasen.
Anaesthesist 14, 74-79
89. SCHWERTZ, D.W., TROYER, D., KREISBERG, J., and VENKATACHALAM, M. 1985
Pathology and pathogenesis of nephrotoxic membrane damage.
Transpl. Proc. 17, (Suppl. 1), 63-71
90. SCHWETZ, B.A., LEONG, B., and GEHRING, P. 1974
Embryo- and fetotoxicity of inhaled chloroform in rats.
Toxicol. Appl. Pharmacol. 28, 442-451
91. SEAMANS, K.B., GLOOR, P., DOBELL, A., and WYANT, J. 1968
Penicillin- induced seizures during cardiopulmonary bypass.
New Engl. J. Med. 278, 861-868

92. **SHORT, C., KEATS, A., LIOTTA, D., and HALL, W.** 1968
Anesthesia for cardiac surgery in calves.
Am. J. Vet. Res. 29, 2287-2294
93. **SIMS, J.L., MORRIS, L., ORTH, O., and WATERS, R.** 1951
The influence of oxygen and carbon dioxide levels
during anaesthesia upon postsurgical hepatic damage.
J. Lab. Clin. Med. 38, 388-396
94. **STAHL, P., RODMAN, J., and SCHLESINGER, P.** 1976
Clearance of lysosomal hydrolases following
intravenous infusion, kinetic competition experiments
with beta-glucuronidase and N-acetyl-beta-D-
glucosaminidase.
Arch. Biochem. Biophys. 177, 594-605
95. **STEIN, J.H., and FRIED, T.** 1985
Experimental models of nephrotoxic acute renal
failure.
Transpl. Proc. 17, (Suppl. 1), 72-80
96. **STERN, A.** 1983
Drug metabolism in renal failure.
Compend. Contin. Educ. Pract. Vet. 5, 913-920
97. **STREET, A., CHESTERMAN, H., SMITH, G., and QUINTON, R.** 1968
Prolonged blood urea elevation in the beagle after
feeding.
Toxicol. Appl. Pharmacol. 13, 363-371
98. **THURAU, K.** 1985
Die renalen Ausscheidungsmechanismen für Imipenem und
ihre Beeinflussung durch Cilastatin.
FAC 4-5, 1111-1115
99. **TRUMP, B., and JANIGAN, D.** 1962
The pathogenesis of cytologic vacuolization in sucrose
nephrosis.
Lab. Invest. 11, 395-419
100. **TUNE, B.M.** 1972
Effect of organic acid transport inhibitors on renal
cortical uptake and proximal tubular toxicity of
cephaloridine.
J. Pharmacol. Exp. Ther. 181, 250-256
101. **TUNE, B.M., and FERNHOLT, M.** 1973
Relationship between cephaloridine and p-amino-
hippurate transport in the kidney.
Am. J. Physiol. 225, 1114-1117
102. **VUYE, A.** 1982
In vitro activity and beta-lactamase stability of N-
formimidoyl thienamycin compared to that of second and
third generation cephalosporins.
Chemotherapy 28, 267-275
103. **WALLACE, A.C.** 1985
Histopathology of cyclosporin.
Transpl. Proc. 17, (Suppl. 1), 117-122

104. **WATSCHINGER, W., KUCHER, R., STEINBEREITHNER, K.,**
und **VYSLONCYL, 1954**
Künstliche Blutdrucksenkung und Nierenfunktion.
Anaesthesist, 3, 54
105. **WATSON, A.D., CHURCH, D., and FAIRBURN, A. 1981**
Postprandial changes in plasma urea and creatinin
concentrations in dogs.
Am. J. Vet. Res. 42, 1878-1880
106. **WEISS, D.J., and ARMSTRONG, P. 1984**
Nonregenerative anemias in the dog.
Compend. Contin. Educ. Pract. Vet. 6, 452-458
107. **WELCH, C.L., and CAMBELL, B.J. 1980**
Uptake of tritiated glycine from L-alanyl glycine
into renal brush-border vesicles.
J. Membr. Biol. 54, 39
108. **WESTHUS, M., und FRITSCH, W. 1961**
Die Narkose der Tiere.
Verlag Paul Parey, Berlin-Hamburg
109. **WILEY, R., LODE, H., und WAGNER, J. 1985**
Klinische Ergebnisse mit Imipenem bei 30 Patienten
mit schweren bakteriellen Infektionen.
FAC, 4-5, 1145-1150
110. **WINTZER, H.J., KELLER, H., MÜLLER, R., und JAESCHKE,**
G. 1979
Die Halothane-Sauerstoffnarkose beim Pferd nach Prä-
medikation mit Atropin/Combelen und Chloralhydrat.
Berl. Münch. Tierärztl. Wschr. 92, 81-84
111. **ZOLLINGER, H.U., and MIHATSCH, M.J. (Hrsg.) 1978**
Renal pathology in biopsy.
Springer Verlag, Berlin-Heidelberg-New York

Worte des Dankes

Ich danke Herrn Prof. Dr. med. Dr. h.c. W. Brendel für die Bereitstellung eines Arbeitsplatzes am Institut für Chirurgische Forschung und für seine Anregungen und Ratschläge im Verlauf der ganzen Arbeit.

Ganz besonders danke ich Herrn Prof. Dr. med. vet., Dr. med. C. Hammer für die Betreuung meiner Arbeit und für die zahlreichen Anregungen zur Ausarbeitung der Methodik, als auch zur Vertiefung der Thematik. Seine Unterstützung und sein Ansporn haben die Arbeit entscheidend geprägt.

Herrn Prof. Dr. med. vet. M. Merckenschlager gilt mein Dank für die spezielle Betreuung in tiermedizinischer Hinsicht.

Herrn Priv.-Doz. Dr. M. Mihatsch danke ich für die Untersuchung und Beurteilung der histologischen Präparate.

Bei Herrn Dr. F. Krombach bedanke ich mich dafür, daß er mich in das experimentelle Arbeiten einführte und bei Fragen und Problemen jederzeit bereitwillig beriet.

Herrn Dr. rer. nat. W. Mraz danke ich für die freundschaftliche Zusammenarbeit im Labor des Instituts für Klinische Chemie.

Für die technische Unterstützung im OP und im Labor danke ich Frl. G. Höbel und Frl. A. Ammeling und allen anderen Damen im Labor, sowie Herrn O. Frisch stellvertretend für den Tierstall.

Lebenslauf

13. Dezember 1959 geboren in Sudbury, Ontario, Kanada als Sohn des Ingenieurs Egbert Grevemeyer und seiner Ehefrau Lieselotte, geb. Thönebe, Chemielaborantin
- 1965 - 1971 Besuch der Volksschule in Pittsburgh, Pennsylvannia in U.S.A.
- 1971 - 1979 Besuch des Gymnasiums in Buxtehude, Niedersachsen in der Bundesrepublik Deutschland
- 15.5.1979 Abitur in Buxtehude
- Herbst 1979 Beginn des Studiums der Veterinärmedizin an der Ludwig-Maximilians Universität in München
- 30.9.1980 Vorphysikum
- 16.9.1981 Physikum
- 20.9.1982 1. Abschnitt der tierärztlichen Prüfung
- 1.3. - 22.4.1983 Klinikpraktikum: Veterinary Medical Center, Veterinary Hospital, Kansas State University
- 31.8.1983 2. Abschnitt der tierärztlichen Prüfung
- 17.4. - 6.6.1984 Klinikpraktikum: College of Veterinary Medicine, Department of Large Animal Medicine and Surgery, Texas A&M University in U.S.A.
- 13.12.1984 3. Abschnitt der tierärztlichen Prüfung
- 1.3.1985 Beginn der Doktorarbeit am Institut für Chirurgische Forschung, Klinikum Großhadern

